



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

MARIA GABRIELLE SOUSA DE SANTANA

REUSO DE EFLUENTES NA IRRIGAÇÃO DE MILHO E NO CULTIVO “*in door*”
DE MICROALGAS PARA FINS BIOTECNOLÓGICOS

FORTALEZA

2020

MARIA GABRIELLE SOUSA DE SANTANA

REUSO DE EFLUENTE DE ESGOTO NA IRRIGAÇÃO DE MILHO E NO CULTIVO “*in door*” DE MICROALGAS PARA FINS BIOTECNOLÓGICOS

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

Orientador: Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca

FORTALEZA

2020

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)

S223r Santana, Maria Gabrielle Sousa de.
Reuso de efluentes na irrigação do milho e no cultivo “in door” de microalgas para fins biotecnológicos /
Maria Gabrielle Sousa de Santana. – 2020.
82 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, 2020.
Orientação: Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca.

1. Efluentes. 2. Reuso. 3. Microalgas. 4. Biorremediação. 5. Irrigação. I. Título.

CDD 660.6

MARIA GABRIELLE SOUSA DE SANTANA

REUSO DE EFLUENTE NA IRRIGAÇÃO DE MILHO E NO CULTIVO “*in door*” DE
MICROALGAS PARA FINS BIOTECNOLÓGICOS

Tese apresentada ao Programa de Doutorado em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Biotecnologia. Área de concentração: Biotecnologia de Recursos Naturais.

Aprovado em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^o Dr. José Osvaldo Beserra Carioca
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^o Sueli Rodrigues
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^o André Luis Coelho da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^a Krishna Ribeiro Gomes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

À minha família por todo apoio e carinho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof Dr José Osvaldo Beserra Carioca (Departamento de Engenharia de alimentos/UFC), pela orientação, compreensão, amizade e exemplo de empreendedor.

Ao Profº Drº André Coelho (Departamento de Bioquímica/UFCE), pelo auxílio, exemplo de pesquisador, orientação em todas as etapas dessa pesquisa e abertura de possibilidades ao desenvolvimento desse estudo e parcerias.

À Drª Krishna Ribeiro Gomes (Departamento de Engenharia Agrícola/UFCE), por aceitar participar dessa banca.

Aos parceiros do Padetec/UFC, Eder de Oliveira Santos, Natália Aquino, Celma Barbosa, Santino Loruan, Luzara Ribeiro, pelo auxílio e análises realizadas nesse trabalho.

Aos meus amigos José Arnaldo Farias Sales e Keivia Lino, pela amizade e auxílio nos momentos difíceis.

Ao coordenador, Prof Drº Ivanildo (Programa em Biotecnologia da UFC) pela compreensão e incentivo, por sempre estar disponível em resolver os problemas de matrículas.

Ao secretário do RENORBIO/UFC, Adil, por sempre me ouvir e me acalmar nos momentos mais difíceis dessa jornada, pela amizade e força.

Ao funcionário, Sr Manoel (PADETEC/UFC), pela dedicação e profissionalismo.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram nesse trabalho e que não foram mencionados aqui.

RESUMO

O reuso de efluentes na irrigação corresponde a uma alternativa viável e sustentável, pois além de assegurar o uso de água, permite que os cultivos recebam suplementação nutricional, pois são constituídos de macro e micronutrientes essenciais as plantas. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais cultivadas comercialmente e no seu beneficiamento, as vísceras são descartadas e como forma de aproveitamento, são utilizadas para produção de efluentes. Os efluentes também são utilizados no cultivo de espécies de microalgas, principalmente por ser um meio de cultivo alternativo de baixo custo e possuir nutrientes essenciais para o desenvolvimento delas. No experimento o reuso de efluentes foi utilizado na irrigação do milho híbrido, em vasos, em um delineamento inteiramente casualizado utilizando 2 tipos de água (abastecimento e esgoto doméstico tratado), 5 doses de NPK com 4 repetições. Foi analisada a composição foliar e os níveis de macro e micronutrientes. O reuso de efluentes de esgoto promoveu um acúmulo de micronutrientes na folha, podendo ser utilizado como fonte de suplementação mineral para a cultura do milho. Para avaliação do crescimento das microalgas foram utilizadas duas espécies, *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* que foram inoculadas em quatro percentuais (25, 50, 75 e 100%) do efluente proveniente de vísceras de tilápia. O crescimento da *Chlorella vulgaris* foi satisfatório em água de reuso a 75%, indicado pela fase exponencial longa e densidade celular máxima alcançada em 28 dias de cultivo. Em relação a *Scenedesmus obliquus*, o crescimento foi satisfatório no efluente 100%, mostrando eficiência nutricional adequada para a obtenção de todas as fases de crescimento e máxima densidade celular em 35 dias. As microalgas foram sedimentadas utilizando amido catiônico. Os resultados mostraram eficiência de sedimentação de 80% quando a concentração do amido catiônico 2040 foi fixada entre 1,0 e 2,0 g. A eficiência da sedimentação com amido catiônico 3040 foi positiva em concentração entre 0,5 e 1,0 g de amido. Assim, concluiu-se que ambos os amidos catiônicos podem ser utilizados na floculação de microalgas, indicando como melhor o amido catiônico 3040 por usar menor concentração com eficiência acima de 80% nos primeiros 60 minutos de floculação.

Palavras-chave: Efluentes. Reuso. Microalgas. Biorremediação. Irrigação.

ABSTRACT

The effluents reuse in irrigation corresponds to a viable and sustainable alternative, because in addition to ensuring the use of water, allows crops to receive nutritional supplementation, as they are made up of essential macro and micronutrients for plants. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the most commercially cultivated species and in its processing, the viscera are discarded and as a way of using them are used for the production of effluents. Effluents are also used in the cultivation of microalgae species, mainly because is a low cost alternative cultivation medium and has essential nutrients for their development. In this experiment, the reuse of effluents was used in irrigation of hybrid corn, in pots, with a completely randomized design using 2 types of water (supply and treated domestic sewage), 5 doses of NPK with 4 repetitions. The leaf composition and the levels of macro and micronutrients were analyzed. The reuse of sewage effluents promoted an accumulation of micronutrients in the leaf, which can be used as a source of mineral supplementation for the cultivation of corn. To evaluate the growth of microalgae, two species were used: *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*, which were inoculated in four percentages (25, 50, 75 and 100%) of effluents from tilapia viscera. The growth of *Chlorella vulgaris* was satisfactory in 75% reuse water, indicated by the long exponential phase and maximum cell density reached in 28 days of cultivation. In relation to *Scenedesmus obliquus*, the growth was satisfactory in the 100% effluent, showing adequate nutritional efficiency to obtain all phases of growth and maximum cell density in 35 days. The microalgae were sedimented using cationic starch. The results showed 80% sedimentation efficiency when the cationic starch 2040 concentration was fixed between 1.0 and 2.0 g. The efficiency of sedimentation with cationic starch 3040 was positive in a concentration between 0.5 and 1.0 g of starch. Thus, we concluded that both cationic starches can be used in the flocculation of microalgae, indicating that cationic starch 3040 is better because it uses a lower concentration with efficiency above 80% in the first 60 minutes of flocculation.

Keywords: Effluents. Reuse. Microalgae. Bioremediation. Irrigation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Organograma representativo da cadeia de processos no cultivo de microalgas.....	20
Figura 2 – Imagem da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. em microscopia óptica.....	22
Figura 3 – Desenho esquemático de uma sala destinada ao cultivo de microalgas em bancada.....	23
Figura 4 – Desenho esquemático da metodologia de contagem celular por meio da Câmara de Neubauer, ponto a ser preenchido pelo líquido, áreas e sentido da contagem.....	23
Figura 5 – O screeplot dos autovalores dos componentes principais.....	37
Figura 6 – Grafico de análise de componentes principais: A - Biplot do CP1 x CP2 com as variáveis explicativas A1 (água de poço) e A2 (água de abastecimento) e as variáveis resposta em diferentes níveis; B - Nuvem de pontos das variáveis relacionadas a A1 (água de poço); C - Nuvem de pontos das variáveis relacionadas a A2 (Efluente).....	38
Figura 7 – Regressão linear das variáveis mais relacionadas ao CP1.....	41
Figura 8 – Regressão linear das variáveis mais relacionadas ao CP2.....	42
Figura 9 – Cultivo de microalgas em 25,50, 75 e 100 % de efluente, PADETEC-UFC, Fortaleza- CE, 2019.....	48
Figura 10 – Diluições do efluente de vísceras de tilápia utilizado no cultivo de microalgas. A- 25% de efluente de víscera de Tilápia; B- 50% de efluente de víscera de Tilápia; C – 75% de efluente de víscera de Tilápia; D – 100% de efluente das vísceras de Tilápia, PADETEC-UFC, Fortaleza- CE, 2019.....	49
Figura 11 – Contagem de microalga <i>Chlorella vulgaris</i> em quatro percentuais de efluente a base de víscera de tilápia do Nilo, PADETEC - UFC, Fortaleza-CE, 2019.....;	51
Figura 12 – Contagem de microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> em quatro percentuais de efluente a base de víscera de tilápia do Nilo, PADETEC - UFC, Fortaleza-	

CE, 2019.....	53
Figura 13 – Eficiência da sedimentação da <i>Chlorella vulgaris</i> em concentrações distintas de amido catiônico 2040.....	60
Figura 14 – Eficiência da sedimentação da <i>Chlorella vulgaris</i> em concentrações distintas de amido catiônico 3040.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Conteúdo em óleo de alguns géneros e espécies de microalgas.....	24
Tabela 2 –	Composição geral de fontes de alimentos humano e diferentes algas (% de matéria seca).....	27
Tabela 3 –	Produção anual de microalgas (adaptado de Brennan e Owende, 2010).....	29
Tabela 4 –	Análise química do solo utilizado no experimento.....	34
Tabela 5 –	Parâmetros químicos da água de abastecimento e do efluente de esgoto doméstico tratado utilizado na irrigação do milho.....	35
Tabela 6 –	Componentes principais (CPs), Autovalores (λ), Porcentagem de variância explicada e Proporção acumulada pelos componentes.....	36
Tabela 7 –	Coefficientes de ponderação das características e seus coeficientes de correlações.....	38
Tabela 8 –	Caracterização física, química e físico-química do efluente bruto de víscera de tilápia do Nilo.....	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos Especificos.....	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Produção e Tratamento de Efluentes nas Grandes Cidades.....	16
3.1.1	<i>Reuso de Efluentes na Irrigação e o Suprimento Nutricional.....</i>	18
3.2	Microalgas.....	18
3.2.1	<i>Cultivo e Crescimento de Microalgas.....</i>	22
3.2.2	<i>Aplicações Biotecnológicas das Microalgas.....</i>	26
4	CAPITULO 1 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO MILHO IRRIGADO COM EFLUENTE.....	30
4.1	Introdução.....	32
4.2	Materiais e Métodos.....	33
4.3	Resultados e Discussão.....	36
4.4	Conclusão.....	43
5	CAPITULO 2 – CRESCIMENTO DE CHLORELLA VULGARI SCENEDESMUS OBLIQUUS EM EFLUENTE DE VÍSCERAS DE TILÁPIA NILO PROCESSADO EM REATOR UASB.....	44
5.1	Introdução.....	46
5.2	Materiais e Métodos.....	47
5.3	Resultados e Discussão.....	50
5.4	Conclusão.....	55
6	CAPITULO 3 – FLOCULAÇÃO DE CHLORELLA VULGARIS SOB AÇÃO DO TEMPO E CONCENTRAÇÕES DE AMIDO CATIÔNICO.....	56
6.1	Introdução.....	58
6.2	Materiais e Métodos.....	59

6.3	Resultados e Discussão.....	60
6.4	Conclusão.....	63
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65
	APÊNDICE A - PATENTE.....	78
	APÊNCICE B - REIVIDICAÇÕES.....	79
	ANEXO A – APARELHO DE SEPARAÇÃO DA BIOMASSA ALGA.....	82
	ANEXO B – GRAFICO DO RENDIMENTO, PH E TEMPO EM RELAÇÃO A APLICAÇÃO DE HIDROXIDO DE SÓDIO (NaOH).....	83
	ANEXO C – IMAGEM DO APARELHO DE ELETROFLOCULAÇÃO SEPARANDO A BIOMASSA ALGAL.....	84

1 INTRODUÇÃO

A gestão dos recursos hídricos enfrenta um desafio relevante no contexto contemporâneo, que tem como foco principal equilibrar a necessidade dos usuários a acessibilidade aos recursos hídricos existentes. Os efluentes tratados têm um papel indispensável no planejamento e gestão sustentável dos recursos hídricos como alternativa para utilização na agricultura, na indústria e nas cidades. Emancipando o uso de água de qualidade superior para fins de abastecimento público e usos prioritários. Portanto, a utilização de efluentes é importante para a preservação dos recursos e também na questão econômica no planejamento desses recursos.

Alguns estudos evidenciam que para uma população de 500 mil habitantes, que possui o consumo de água é 200 L hab⁻¹ ao dia, é gerado em efluentes, aproximadamente de 85.000 m³ (85 % de esgoto canalizado) ou 30 milhões de m³.ano⁻¹ (PESCOD, 2009). Nesse contexto, aplicando uma lâmina de 500 mm ano⁻¹ de efluente via irrigação, o total de efluentes produzidos seria suficiente para irrigar 6.000 ha de lavoura.

O reuso de efluentes deve ser analisado com opção além de fins agrícolas como biotecnológicos, podendo ser utilizado também para o cultivo de microalgas. Portanto, atualmente as pesquisas buscam o desenvolvimento de meios de cultivo para microalgas eficientes e que diminuam os custos de produção. Isso vai ao encontro de estudos desenvolvidos por De-Bashan e Bashan (2010) destacando que efluentes secundários oriundos de esgotos possuem nutrientes em altas concentrações, com isso promovendo a eutrofização de rios, lagos e mares. Os nutrientes que estão associados à este problema são principalmente o fósforo e o nitrogênio sendo o restante, outros poluentes característicos destes tipos de águas residuárias.

As microalgas possuem grande potencialidade no contexto biotecnológico e comercial, pois produzem compostos importantes na sua biomassa, ressaltando sua capacidade de desenvolvimento de forma rápida com elevadas concentrações de Nitrogênio e Fósforo (DERNER *et al.*, 2006). Além disso, o cultivo de microalgas se destaca como uma opção eficaz na biorremediação de efluentes.

Analisando outros fatores relacionados com o cultivo de microalgas, observa-se que poucas espécies podem ser cultivadas em sistemas de produção abertos, pois ocorre contaminação por fungos, bactérias ou protozoários. Além disso, a contaminação por outras espécies de microalgas pode prejudicar o inóculo utilizado no cultivo (RICHMOND, 2004).

Durante o processo de produção de microalgas um dos gargalos é a separação da biomassa algal, pois a utilização de métodos convencionais está demonstrando pouca eficiência.

Deve-se, portanto, adaptar novas metodologias com o intuito de auxiliar na separação da biomassa e o meio de cultivo, sem causar interferência nas propriedades da microalga cultivada. Portanto, as microalgas são normalmente removidas através do uso das seguintes metodologias: pré-oxidação, coagulação e floculação, clarificação ou sedimentação seguida de uma filtração granular e ozonização (ROCHA; GARCIA, HENRIQUES, 2003; HENDERSON *et al.*, 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Compreender as possibilidades de reuso de efluentes e seus impactos na irrigação de milho híbrido e cultivo “*in door*” de microalgas.

2.2 Objetivos Específicos

- Estudar os impactos da irrigação com efluente e água de abastecimento na absorção de macro e micronutrientes do milho híbrido;
- Analisar a interação da absorção desses nutrientes na composição foliar de gramíneas irrigadas com efluente doméstico tratado e água de abastecimento;
- Analisar o uso de efluente de esgoto doméstico como suplementação mineral;
- Cultivar *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em efluentes de vísceras de tilápia após passagem por reator UASB;
- Identificar o tempo e a concentração de flocculante na qual se é obtido à máxima eficiência na floculação da microalga *Chlorella vulgaris*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Produção e tratamento de efluentes nas grandes cidades

Dentre os eixos que envolvem o saneamento básico, os que são mais relevantes destacam-se os serviços que envolvem acesso a água potável, coleta e tratamento de efluentes sanitários, pois esses serviços estão diretamente relacionados a uma melhor qualidade de vida da população, principalmente por impactar na saúde infantil reduzindo o índice de mortalidade infantil. Além disso, melhorias que envolvem essa temática trazem impactos positivos na educação, no turismo, na valorização dos imóveis, no aumento da renda e na sustentabilidade dos recursos hídricos (JORDÃO; PESSÔA, 2014).

Os esgotos domésticos são constituídos de aproximadamente 99,9% de água e os 0,1% restantes geralmente são sólidos, que podem ter composição orgânica e inorgânica, suspensos e dissolvidos, assim como microrganismos. E é por causa desses 0,1 % que é indispensável o tratamento de esgoto (BARROS *et al.*, 2007).

Os efluentes domiciliares em sua maioria têm origem nas residências, prédios comerciais, instituições e de todas edificações que possuam instalações de banheiros, lavanderias, cozinhas, ou qualquer dispositivo de utilização da água para fins domésticos. Esses efluentes gerados dessa origem geralmente consistem de água de banho, urina, fezes, papel, material orgânico (comida), sabão, detergentes e águas de lavagem (PINHO *et al.*, 2017).

Os níveis de tratamentos utilizados para esgotos são classificados como preliminar, primário e secundário. O tratamento preliminar utiliza meios físicos com o intuito de eliminar os sólidos mais grosseiros; O tratamento secundário tem como objetivo reduzir o teor de matéria orgânica, através da remoção de sólidos sedimentáveis. O tratamento secundário destaca-se os mecanismos biológicos para remover a matéria orgânica e o Nitrogênio e Fósforo, utilizando sistemas anaeróbios, aeróbios e facultativos. O tratamento terciário é utilizado caso haja a necessidade de remover poluente específicos, caso sejam eles tóxicos ou não biodegradáveis (VON SPERLING, 2017).

Os constituintes do efluente sanitário geralmente possuem excesso de Fósforo (P) e o Nitrogênio (N) que em altas concentrações causam a eutrofização dos recursos hídricos, impactando assim os parâmetros físicos, químicos e biológicos das águas, além de impossibilitar o uso desses recursos hídricos para o consumo e lazer (FREITAS *et al.*, 2016).

Algumas regiões do mundo já estão passando por problemas relativos à crescente demanda por água doce. Diante disso, os custos do abastecimento e fornecimento de água estão

aumentando, justificado pela distância que algumas cidades precisam alcançar para garantir uma fonte de água de boa qualidade para o consumo humana (MILLER, 2006).

A imposição para adoção de medidas antecipadas com o intuito de conservar e aumentar os recursos hídricos que são limitados, visa atender as demandas de água para a população que está em constante crescimento e com hábitos de desenvolvimento não sustentável, gerando uma importância crescente tem sido canalizada com a utilização de águas de efluente doméstico tratadas (LEVINE; ASANO, 2004, PEREIRA *et al.*, 2011).

A reutilização de águas de qualidade inferior para irrigação está sendo incentivada e implantada em vários países do mundo, principalmente para fins agrícolas e paisagens. De acordo com a ONU (2003), aproximadamente 200 milhões de hectares em mais de 50 países utilizam como água de irrigação efluentes tratados ou não tratados. Além da vantagem de reduzir o uso de água doce, a utilização de águas residuais fornece ao solo um aporte com nutrientes orgânicos e inorgânicos (GANJEGUNTE *et al.*, 2018; ABD-ELWAHED, 2018).

A reutilização de águas residuais deve ser usada com cautela, pois a longo prazo e sem acompanhamento pode influenciar negativamente os cultivos agrícolas e a qualidade do solo (KABATA-PENDIAS; MUKHERJEE, 2007; SALIBA *et al.*, 2018; BARBER *et al.*, 2019).

A densidade inicial de microalgas também é um fator crítico para o crescimento da população. Dentre as microalgas, as clorofíceas, particularmente, demonstraram ser tolerantes às condições presentes em diferentes efluentes (RUIZ-MARIN *et al.*, 2010).

O tratamento de esgoto sanitário e resíduos industriais em países tropicais baseiam-se em métodos biológicos como as lagoas aeradas, os reatores anaeróbios e as lagoas de estabilização, devido à eficiência e relativa simplicidade desses sistemas (MENDONÇA, 2000).

O reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (reator UASB) exhibe a vantagem de remover grande parte da matéria orgânica do esgoto, cerca de 55 a 75% com custos de implantação e operação consideravelmente baixos, no entanto não é eficiente na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e patógenos, além da matéria orgânica presente no seu efluente. Assim, é importante que se realize um pós-tratamento no efluente do reator UASB com a finalidade de completar a remoção desses materiais remanescentes, sendo as lagoas de estabilização uma das alternativas de pós-tratamento (CHERNICHARO *et al.*, 2001).

Mezzomo *et al.* (2010) utilizaram efluente de suíno, rico em fósforo e nitrogênio inorgânicos, para a produção de biomassa de microalga *Spirulina platensis*, no qual verificaram que a cultura de *Spirulina* em efluente suíno demonstrou a possibilidade do seu uso na remoção de DQO e fósforo, além da produção de biomassa, podendo ser uma possível solução para o

impacto ambiental gerado pela descarga de efluentes em fontes naturais. O estudo destacou que a biomassa produzida pode ser adicionada a rações de peixes, os quais podem ser utilizados na formulação de produtos cárneos.

3.1.1 Reuso de efluentes na irrigação e o suprimento nutricional

Muitas cidades em países de baixa e média renda, a utilização de águas residuais é uma prática costumeira há décadas (ADEGOKE *et al.*, 2018).

A irrigação com águas residuais é questionada por apresentar alta concentração de sais, metais pesados, vírus e bactérias. Comprometendo a sustentabilidade agrícola, além de trazer efeitos indesejáveis ao solo e as culturas. (Qadir *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Pedrero *et al.*, 2018). Segundo estudos realizados por Igbinosa *et al.*, (2011) as águas residuais podem conter altas concentrações de antibióticos de uso privado e aplicações em hospitais, juntamente com bactérias patogênicas ou resistentes a medicamentos ou ambas.

O reuso de efluentes é um recurso alternativo para reduzir o uso de água de qualidade superior, uma estratégia de conservação, pois as águas residuais são ricas em nutrientes, dependendo da fonte e do nível de tratamento as águas residuais podem acumular metais como zinco (Zn), cádmio (Cd), chumbo (Pb), ferro (Fe), cobre (Cu) e níquel (Ni), quando aplicados ao solo em quantidade excessiva, podem causar fitotoxicidade, um risco direto para saúde humana ou efeitos indiretos devido à transmissão pela cadeia alimentar ou contaminação das águas subterrâneas ou superficiais (GATTA *et al.*, 2018).

Nesse contexto Morgan *et al.* (2008) e Pedrero e Alarcón (2009) observaram em seus estudos a presença de altas concentrações de Mg e B em citros irrigados com água de reuso, e toxicidade associada ao excesso de alguns micronutrientes (B, Cu, Ni e Zn) foi relatada em citros e couve.

3.2 Microalgas

Existem muitos modos de definir “microalga”. A ficologia considera que qualquer organismo que contém clorofila *a* e um talo, não diferenciado em raízes, caule e folhas, é uma alga. Na ficologia aplicada, o termo microalga refere-se estritamente a algas microscópicas e às bactérias fotossintéticas aeróbias, as cianobactérias (TOMASELLI, 2013).

O mecanismo fotossintético das microalgas é comparável ao das plantas terrestres, mas devido à sua estrutura celular simples, e ao meio líquido em que vivem, apresentam trocas

mais eficientes de água, CO₂ e nutrientes do que as plantas superiores, o que conduz a taxas mais elevadas de conversão de energia solar em biomassa (RUSSO; LAPA, 2011).

A ideia de explorar microalgas a nível industrial surgiu, pela primeira vez, na Alemanha, durante a 2ª Guerra Mundial, como fonte barata de proteínas, já que a carne animal era um bem escasso. Nas décadas de 50 e 60 foram feitos diversos esforços na otimização de culturas de algas, nos EUA e Japão, mas sem sucesso. Apenas na década de 70 ocorreram grandes progressos, com a utilização de culturas para a produção de pigmentos e suplementos (SOEDER, 1986).

O termo microalgas não tem valor taxonômico, pois designa organismos muito distintos entre si quanto à origem, composição química e morfologia. Envolve seres dotados de clorofila e outros pigmentos fotossintéticos, os quais são capazes de realizar a fotossíntese (DERNER *et al.*, 2006).

As microalgas são principalmente encontradas no meio marinho, em água doce e no solo, o que representa uma grande variedade de espécies vivendo em uma ampla gama de condições ambientais (MATA *et al.*, 2010).

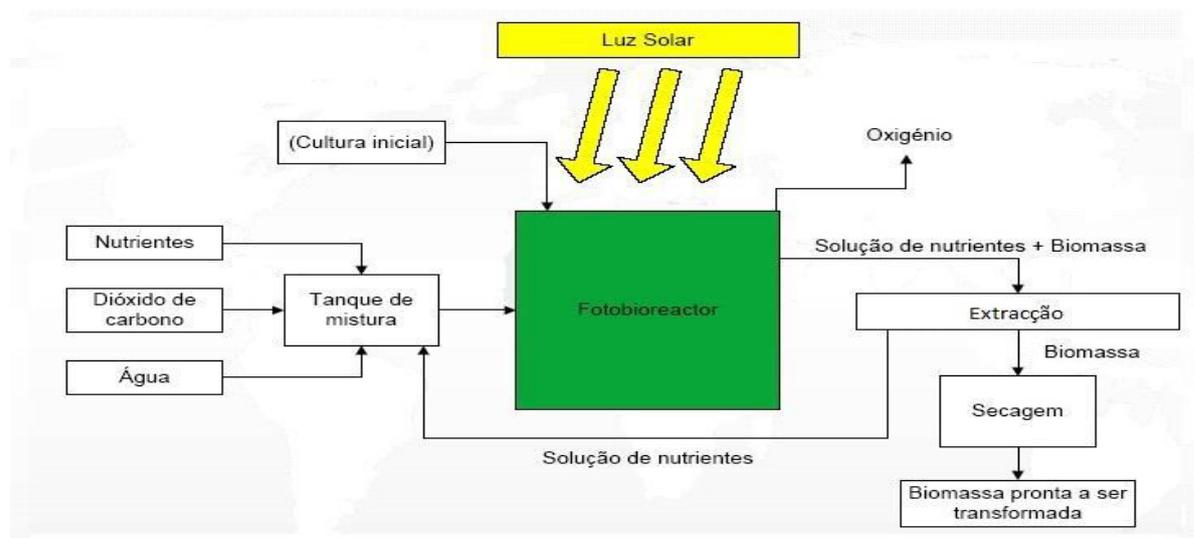
Nessa visão, consideram-se microalgas, as algas que só podem ser observadas com ajuda de uma lupa ou microscópio, por apresentarem dimensões muito reduzidas (existem algas com apenas 0,001mm de diâmetro); são em regra organismos simples, constituídos por uma célula ou um número relativamente pequeno de células. No entanto, algumas células de água doce de maior tamanho, mais complexas e visíveis a olho nu, são muitas vezes abrangidas por esta designação (GUIMARÃES *et al.*, 2009; OLIVEIRA; CAETANO, 2009).

Microalgas são microrganismos que crescem geralmente em meio líquido, se multiplicam rapidamente, produzindo biomassa rica em compostos biologicamente ativos. Algumas espécies de microalgas são cultivadas comercialmente como as espécies dos gêneros *Chlorella*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) e *Arthrospira* (*Spirulina*) (Cyanophyceae) (DERNER *et al.*, 2006), devido à aplicabilidade na indústria de alimentos (COLLA *et al.*, 2004; AMBROSI *et al.*, 2008; SILVA, 2008; CHU *et al.*, 2010), e para a produção de aditivos naturais, tais como β-caroteno e astaxantina (DERNER *et al.*, 2006; GUEDES *et al.*, 2011).

As microalgas marinhas são extremamente importantes na natureza, principalmente por sua vasta contribuição para a produção primária dos ecossistemas aquáticos (ARAÚJO; FARIAS, 2011). No Brasil, o cultivo de microalgas poderá vir a ser uma prática socioeconômica muito promissora devido as suas condições climáticas adequadas, com temperaturas amenas em grande parte do ano e fontes hídricas abundantes (BARROS, 2010).

O crescimento fotossintético requer luz, dióxido de carbono, água e sais inorgânicos. A temperatura aconselhada, para maximizar o crescimento, situa-se entre os 20 e os 30°C. De forma a minimizar os custos associados ao fornecimento de luz à cultura, o crescimento deve depender da luz solar (Figura 1), apesar das variações diárias e sazonais, como crescimento em tanques abertos ou fechados (RUSSO; LAPA, 2011).

Figura 1 - Organograma representativo da cadeia de processos no cultivo de microalgas.



FONTE: Adaptado de FAO, 2011; RUSSO; LAPA, 2011

É importante conhecer as condições ótimas e os limites de tolerância de uma microalga para todos os parâmetros. Inclusive, no cultivo em escala maior (*scale up*), o rendimento é alcançado dependendo tanto da concentração das células no cultivo em nível de bancada como a quantidade em que as células podem desenvolver seu potencial de crescimento. Portanto, para conseguir um cultivo de microalgas em crescimento ativo é necessário um inóculo viável de tamanho mínimo para o fornecimento de nutrientes e microelementos adequados às condições químicas e físicas: luz, aeração, temperatura, salinidade e energia. Igual a qualquer outro microrganismo, as condições físicas tem grande influência no crescimento da microalga, e cada espécie apresenta um particular intervalo de temperatura, intensidade de luz, salinidade, preferências espectrais, dióxido de carbono e oxigênio para uma eficiência de crescimento (CAÑIZARES, 1994).

A temperatura das microalgas deve ser mantida, no caso de espécies tropicais, em um intervalo de 16 a 27°C para que o crescimento não sofra alterações, tendo como temperatura ótima em torno de 24°C. Baixas temperaturas com o intervalo acima não matam a microalga,

mas pode diminuir o crescimento. Em temperaturas acima de 35°C, pode provocar o colapso da maioria de microalgas. Outro ponto a ser considerado, pH demasiadamente elevado ou baixo reduz o crescimento da microalga quebrando muitos processos celulares, portanto, caso o nitrogênio não esteja sendo fornecida à cultura tal como na maioria das microalgas seletivas à amônia, provocará uma queda no pH. Daí, o controle deve ser por meio do fornecimento de dióxido de carbono à cultura, pois pH em torno de 11 ocasiona em morte das microalgas (HOOF; SNELL, 2001; PIÑERA, 2002).

O domínio das técnicas das condições ótimas, físicas e químicas (nutrientes e meio de cultivo), em gerar concentrados de microalgas que poderá abrir um novo campo de investigações sobre compostos bioativos voltados a indústria de corantes naturais, como a ficoeretrina e a ficocianina, ácidos graxos ômega 3 e proteínas. A produção em escala industrial é promissora na geração de benefícios nas áreas social, ambiental e econômico (BARROS, 2010; PEQUENO; SOUSA, 2010).

De acordo com Brown *et al.* (1989) de 90 a 95% da biomassa seca das microalgas é constituída por proteínas, carboidratos, lipídios e minerais, no restante os ácidos nucléicos. As diferenças entre classe e condições de cultivo é que determinam as variações entre as proporções destes compostos (GLESSLER, 2011).

As microalgas diatomáceas acumulam grandes quantidades de EPA e DHA em gotículas lipídicas contidas no citoplasma, sendo um grande grupo de microalgas (existem mais de 20 000 espécies conhecidas). São unicelulares ou formam colônias, com dimensões que vão desde 2 micrômetros a 2 mm. A reprodução é por fissão binária, com uma valva desenvolvendo uma célula filha e servindo como valva maior. Após sucessivas gerações de divisão celular, o tamanho da célula tende a diminuir; para que a mesma volte ao tamanho normal (LEMOS, 2012).

As microalgas *Scenedesmus* sp. (Figura 2) são clorofiladas unicelulares e uninucleadas, pertencentes à família Scenedesmaceae, gênero *Scenedesmus*. Possuem forma 22 elipsoidal e as colônias são planas (série linear) com as células agrupadas em número de 4; 8, raramente 16 ou 32 (STANKIEWICZ *et al.*, 1981), apresentando uma multiplicação por autoesporulação e um teor lipídico que varia de 58,3% para *Scenedesmus obliquus* e 73% para *Scenedesmus rubescens* (LOURENÇO, 2006; LEMOS, 2012).

Figura 2 - Imagem da microalga *Scenedesmus sp.* em microscopia óptica.



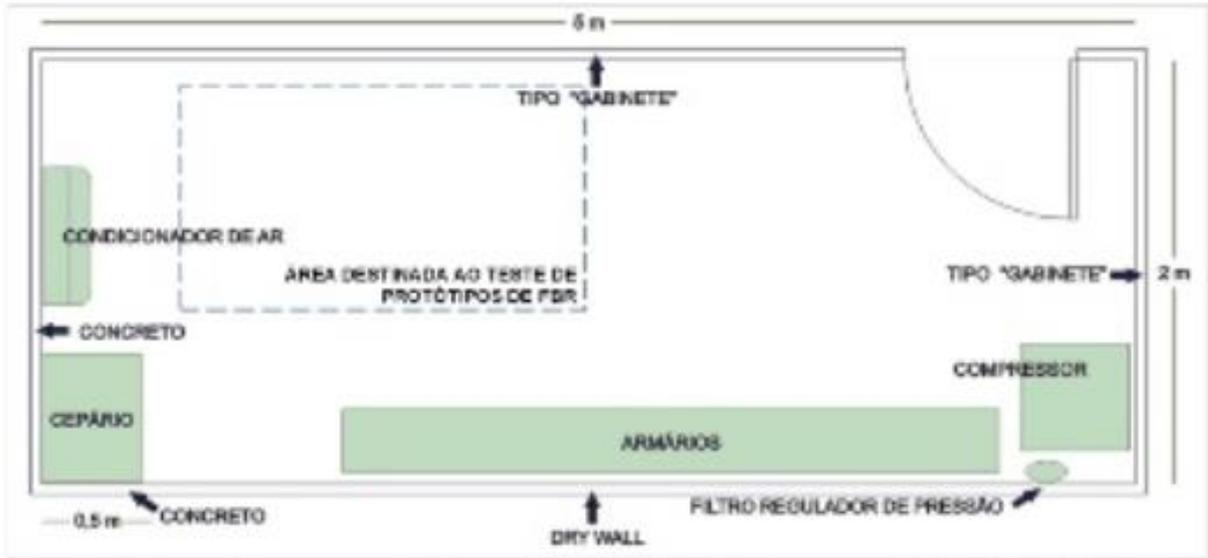
FONTE: OLIVEIRA (2013)

3.2.1 Cultivo e crescimento de microalgas

A maioria dos laboratórios de cultivo de microalgas deve ser dividido em 2 áreas: Área de gabinete e área de cultivo. A primeira (6 X 6m) abrange os principais requisitos para a preparação de nutrientes, esterilização de vidrarias e manutenção de equipamentos, ou seja, é um ambiente que requer medidas de limpeza estritas dotado de armário para guardar todo material estéril, com autoclave, forno microondas, pipetas, refrigerador, capela de fluxo laminar, microscópio ótico, espectrofotometro e balança analítica. A segunda área (6 X 9m) consiste em efetuar o cultivo destes microorganismos que consta de uma entrada de água, sistema de filtração e irradiação, aeração, luz e contenedores de cultivo. As salas não podem ser dotadas de janela, e apresentam uma única comunicação que é a porta (PIÑERA, 2002; SILVA, 2004).

O tipo de cultivo em nível de bancada (Figura 3) pode ser chamado semi-contínua ou contínua, dependendo dos requisitos de produção de um lote de cultura. O semi-contínuo é caracterizado por remoção periódica de um volume padrão de cultura em intervalos de tempo determinados e substituindo-o por meio fresco para se obter o volume original. A cultura contínua é aquela em que a colheita e renovação de nutrientes são constante dependente da taxa de divisão da microalga. Outro aspecto a levar em consideração, é a contaminação no decorrer do preparo do meio de cultivo e inoculação, portanto, faz-se necessário o tratamento da água mediante cloração e neutralização da mesma com tiosulfato de sódio (PIÑERA, 2002).

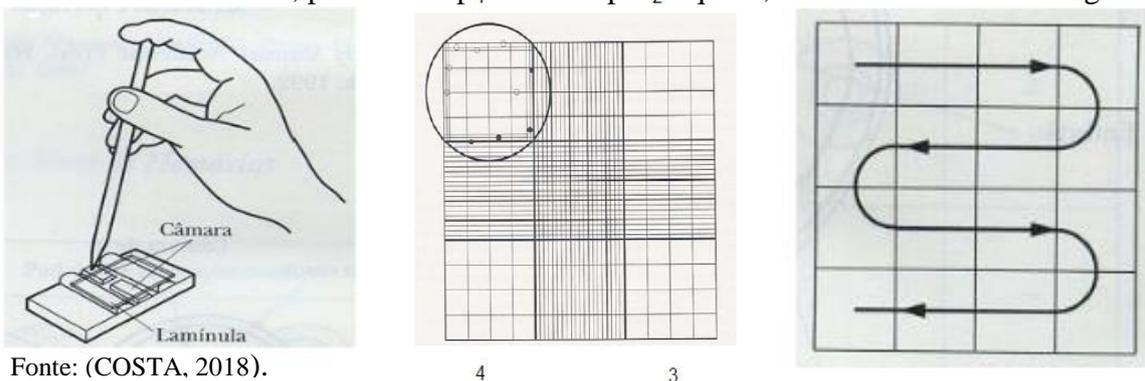
Figura 3 - Desenho esquemático de uma sala destinada ao cultivo de microalgas em bancada.



Uma vez que tem que avaliar a cinética de crescimento da microalga se deve tomar em conta a maioria das células inoculadas, estas precisam ser viáveis às condições para que se dividam imediatamente. No caso de células velhas do cultivo mãe, as enzimas podem estar inativas e as concentrações dos metabólitos podem decrescer a níveis insuficientes para a divisão celular (CAÑIZARES, 1994).

O crescimento celular e evolução da biomassa podem ser acompanhado diariamente para assim se administrar a proporção de alimentos. Os métodos são contagem celular (Hemocitômetro ou câmara de Neubauer) e densidade óptica. Na contagem celular em câmara de Neubauer (Figura 4), o líquido (0,5mL) deve preencher apenas um lado da câmara e não deve chegar aos canais de cada lado da área de contagem, por isso a ponta da pipeta deve preencher na borda da lamínula cuidadosamente, devendo ser contado em 4 áreas e corrigido, posteriormente, por 10000 (PIÑERA, 2002).

Figura 4 - Desenho esquemático da metodologia de contagem celular por meio da Câmara de Neubauer, ponto a ser preenchido pelo líquido, áreas e sentido da contagem.



Fonte: (COSTA, 2018).

A densidade óptica ou absorvância é amplamente utilizada para a determinação de biomassa de microalgas tendo a vantagem de ser capaz de ler rapidamente e ser capaz de mostrar curvas de calibração para cada uma das espécies de microalgas. O procedimento deve seguir regras: 1- a amostra é homogeneizada e que leva um volume de aproximadamente 20 ml num béquer; 2- Colocar 3 mL em cubeta e medir em comprimento de onda de 750nm, para que não haja interferências de pigmentos; 3- O espectrofotômetro deve ser calibrado com uma água destilada ou meio de cultivo, desde que calibre em zero de absorvância; e, 4- A absorvância da amostra é lida e registrada em triplicata.

As microalgas são uma excelente fonte de lipídios (Tabela 1) devido ao fato do seu conteúdo em óleo poder ultrapassar 80% do seu peso total (peso seco), embora os níveis mais comuns estejam entre os 20% e os 50% (CHISTI, 2007). Esse teor pode aumentar em algumas espécies de microalgas se as condições de cultura forem modificadas, como por exemplo, reduzindo a concentração dos elementos químicos necessários para o crescimento e divisão das células (nitrogênio, fósforo, silício). Deste modo o teor em lipídios pode aumentar até duas vezes (ILLMAN; SCRAGG; SHALES, 2000).

Tabela 1 - Conteúdo em óleo de alguns gêneros e espécies de microalgas.

Gênero/Espécie	Conteúdo em óleo (% peso seco)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlamydomonas sp.</i>	25
<i>Chlorella vulgaris</i>	14-40/56
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25–33
<i>Nannochloris sp.</i>	20–35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54/65
<i>Nitzschia sp.</i>	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50–77
<i>Spirulina maxima</i>	4 - 9
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

O conteúdo de ácidos graxos ω - 3 têm sido estudados em numerosas estirpes de microalgas. Cepas dos gêneros *Phaeodactylum*, *Nannochloropsis*, *Thraustochytrium* e *Schizochytrium* demonstraram elevada acumulação de EPA e/ou DHA. *Phaeodactylum tricorutum* e *Nannochloropsis* sp. demonstraram um teor de EPA de até 39% dos ácidos graxos totais, enquanto que as estirpes tais como *Thraustochytrium* e *Schizochytrium limacinum* continha uma percentagem de DHA de entre 30-40% de ácidos graxos totais quando cultivadas heterotroficamente. Alta biomassa e comercialmente aceitáveis de produtividades de EPA e DHA são alcançadas com microalgas cultivadas em meios com carbono otimizado e concentrações de nitrogênio, pH e temperatura em condições controladas. A elevada taxa de crescimento ocorre por meio do controle de nutrientes tais como alta taxa de glicose (em torno de 40%), concentração de sódio elevado e alguns outros fatores ambientais, tais como a concentração de oxigênio e temperatura (ADARME-VEGA et al, 2012).

Illman et al. (2000) mostraram que a deficiência de nitrogênio influenciou o cultivo de *Chlorella*, aumentando seu conteúdo lipídico em 63%. O estudo dos efeitos da adição de dióxido de carbono (CO₂), no crescimento e metabolismo de microalgas é estimulado pela necessidade de redução da emissão desse gás na atmosfera. As microalgas têm sido estudadas para biofixação de CO₂ desde que foi demonstrada sua capacidade de adaptação a altas concentrações desse gás, além de utilizá-lo no processo de fotossíntese (MORAIS; COSTA, 2008). Carvalho e Malcata (2005), a produção de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) da microalga *Pavlova lutheri* foi otimizada combinando a intensidade da luz e a concentração de CO₂.

Atualmente, os principais gêneros cultivados a nível comercial são a *Chlorella* sp. e a *Arthrospira* sp., para adição em alimentos naturais e obtenção de clorofilas e ficobilinas, respectivamente, a *Dunaliella salina* para obtenção de betacaroteno, a *Haematococcus pluvialis* para obtenção de astaxantina e a *Cryptocodinium cohnii* para a produção de DHA (ácido docosahexanóico). Além destas, cultivam-se outras espécies de microalgas dos gêneros, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Isochrysis* e *Chlorella* para aquacultura, como fonte alimentar de dáfrias, larvas de crustáceos, moluscos e peixes (GRIMA et al., 2003).

3.2.2 Aplicações biotecnológicas das microalgas

As microalgas são consideradas de alto potencial biológico, ecológico e econômico, pois atualmente são várias as pesquisas que as utilizam como fonte de matéria prima ou enriquecimento de outras substâncias. (DERNER, 2006; BERTOLDI, 2008).

Sua importância ecológica dá-se por seu papel na natureza, precisamente nos ambientes aquáticos, sendo os principais produtores marinhos primários, pois sustentam a vida nos mares, oceanos e outros ambientes de água doce, mantendo o equilíbrio destes ecossistemas (LOURENÇO, 2006).

A relevância econômica pode ser justificada devido ao uso industrial para a produção de cosméticos, biocombustíveis, produtos farmacêuticos e até mesmo alimentos (LOURENÇO, 2006).

O interesse primário pelo cultivo de microalgas objetivou a produção de biomassa para a aquicultura, precisamente como fonte alimentar para algumas espécies de peixes, moluscos e crustáceos, seja de forma direta ou indireta. Outro mercado inovador e atual é a obtenção de compostos bioativos naturais como, por exemplo, isolados proteicos, polissacarídeos, ácidos graxos poliinsaturados, pigmentos carotenóides, vitaminas, esteróis e outros. A partir desses compostos naturais é possível inserir as microalgas na produção de alimentos funcionais ou na elaboração de nutracêuticos. (BECKER, 2004; DERNER *et al.*, 2006).

Entretanto, Richmond (2013) e Derner (2006) mencionam que povos africanos da cidade de Chade e astecas do lago Texcoco no México utilizam biomassa de *Spirulina sp* na alimentação a bastante tempo.

Dentre as microalgas, pode-se citar a *Spirulina sp* como a espécie bastante utilizada para a obtenção de compostos alimentícios. No Brasil estas microalgas já fazem parte da lista de novos ingredientes da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BARROS, 2010).

A produção de proteína a partir de microalgas vem sendo um desafio biotecnológico, pois se trata de um macronutriente de alto valor econômico e necessário ao organismo humano. Este nutriente pode ser obtido por meio de produtos de origem animal ou vegetal, considerados convencionais, ou por fontes alternativas onde se inclui as microalgas. Tais microrganismos possuem a capacidade de utilizar tanto carbono inorgânico como orgânico e apresentam teor proteico entre 40 e 70%, conforme a espécie e o enriquecimento do meio de cultura com nitrogênio (BECKER, 2004; BERTOLDI *et al.*, 2008; LOURENÇO, 2006).

Bertoldi *et al.* (2008) menciona que a espécie *Spirulina sp* pode produzir 20 vezes mais proteínas do que a soja e 400 vezes mais do que a carne bovina. Complementando essa informação, Becker (2004) divulga a comparação entre as fontes proteicas alimentícias e das microalgas, conforme a tabela 2, onde se verifica um alto percentual de proteínas e lipídeos, cerca de 71% e 22%, respectivamente.

Tabela 2 - Composição geral de fontes de alimentos humano e diferentes algas (% de matéria seca)

Produtos	Proteínas	Carboidratos	Lípidos
Fermento	39	38	1
Carne	43	1	34
Leite	26	38	28
Arroz	8	77	2
Soja	37	30	20
<i>Anabaena Cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Clamydomonas rheunhardii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphzridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	43009	12-14
<i>Spirulina máxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11

Fonte: (BECKER, 2004).

As espécies *Spirulina maxima* e *Spirulina platensis* sintetizam alto conteúdo de proteína constituídas por aminoácidos essenciais em valores acima do padrão sugerido pela FAO (BERTOLDI *et al.*, 2008). A *Chlorella sp* é outra espécie que possui valor nutricional agregado devido o seu percentual proteico e qualidade aminoacídica, contudo, poucos estudos são divulgados sobre suas propriedades funcionais e aplicabilidade na alimentação humana (BORGHETTI, 2009; FOWDEN, 1951).

As microalgas também podem ser cultivadas com o propósito de obter ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS), dentre eles o ácido araquidônico – ARA, ácido eicosapentaenóico – EPA e ácido docosahexaenóico – DHA). Skjak-Braek (1992) menciona que certas espécies podem produzir até 30 vezes mais óleo do que a soja.

De acordo com Yongmanitchai e Ward (1991) 153 espécies de microalgas dulciaquícolas na Tailândia e 26 linhagens provenientes de outros países foram pesquisadas com o propósito de conhecer o conteúdo de ácidos graxos essenciais. As espécies que apresentaram produção significativa foram *Chlorella minutissima* e *Phaedactylum tricornutum*.

Esses organismos possuem pigmentos em abundância o que faz crescer o interesse em cultivá-las para obter fontes naturais destes compostos, precisamente de B- caroteno e astaxantina, os quais possuem ação antioxidante (GUEDES, 2011; MENDONÇA *et al.*, 2012). Os carotenoides são pigmentos que também funcionam como fotoprotetores, compostos de grande interesse comercial. Além disso, possuem ação preventiva contra doenças degenerativas, no combate aos radicais livres, estimulando o sistema imunológico e evitando o surgimento do câncer (DERNER *et al.*, 2006). Certas espécies podem conter até 60 tipos de carotenoides em suas células e muitas podem acumular grande quantidade destes (PULZ; GROSS, 2004).

A produção de biocombustíveis por meio das microalgas também vem sendo explorada com o intuito de obter novas fontes biológicas que permitam reduzir os impactos ambientais pelas fontes combustíveis atuais (MENDES *et al.*, 2012).

O rápido crescimento e produção desses microrganismos colaboram para o emprego em vários segmentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Produção anual de microalgas (adaptado de Brennan e Owende, 2010).

Microalga	Produção Anual*	Aplicação e produto	Preço (€)
<i>Spirulina</i>	3000 ton (p.s.)	Nutrição humana Nutrição animal Cosméticos	36 kg ⁻¹
<i>Chlorella</i>	2000 ton (p.s.)	Ficobiliproteínas Nutrição humana Cosméticos Aquacultura	11 mg ⁻¹ 36 kg ⁻¹ 50 L ⁻¹
<i>Dunaliella salina</i>	1200 ton (p.s.)	Nutrição humana Cosméticos B-caroteno	215-2150 kg ⁻¹
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	500 ton (p.s.)	Nutrição humana	
<i>Haematococcus pluvialis</i>	300 ton (p.s.)	Aquacultura Astaxantina	50 L ⁻¹ 7150 kg ⁻¹
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	240 ton (óleo DHA)	Óleo DHA	43 g ⁻¹
<i>Schizochytrium</i>	10 ton (Óleo DHA)	Óleo DHA	43 g ⁻¹

A radiação solar intensa nas áreas do nordeste brasileiro, por exemplo, são subsídios a mais que justificam as pesquisas inovadoras utilizando diversas espécies de microalgas. Outra vantagem desse cultivo consiste em dispensar uso de agroquímicos e técnicas de melhoramento genético, como ocorre no cultivo da soja, destinada a produzir isolado proteico e outros produtos. Bertoldi *et al.* (2008), alegam ainda o fato de não precisarem de grandes hectares de terras para o cultivo e a questão da fome em alguns países pobres são prerrogativas a mais para a produção da biomassa algal.

De acordo com Derner *et al.* (2006) outras áreas estão sendo beneficiadas pelos diversos estudos com as microalgas, por exemplo:

- No meio ambiente, para o tratamento de águas residuais de inúmeros processos industriais, para a detoxificação biológica e remoção de metais pesados; como bioindicadores, na detecção de nutrientes (para as microalgas) e substâncias tóxicas (detergentes, efluentes industriais, herbicidas etc.);
- Na agricultura como biofertilizante do solo;
- E na área farmacêutica para a síntese de toxinas e de moléculas bioativas (capacidade nata de muitas espécies) com propriedades antibióticas, anticâncer, antiinflamatórias, antivirais, redutoras do colesterol e enzimáticas.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DO MILHO IRRIGADO COM EFLUENTE

RESUMO

A alta escassez hídrica existente na atualidade faz com que meios alternativos de irrigação sejam utilizados. O objetivo do estudo foi de avaliar os impactos nutricionais em milho irrigados com efluente de esgoto tratados juntamente com fertilização química. O experimento foi realizado na Estação Meteorológica da Universidade Federal do Ceará. O milho foi cultivado em vasos plásticos, esquema fatorial 2x5 tipos de água (efluente e água de abastecimento x níveis de adubação (NPK), em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições e aplicados 8 tratamentos. A Análise dos componentes principais foi usada com o intuito de reduzir as dimensões das variáveis originais sem perda de informação e de entender a importância de cada uma delas. Com a seleção de dois componentes principais, a redução da dimensão de 11 variáveis originais para 2 componentes principais é bastante razoável. O fator Ca é influenciado pela água de abastecimento utilizada no experimento e os fatores S, P são influenciados pela irrigação com efluente de esgoto tratado. Além disso, observa-se um contraste entre as variáveis Ca e N e uma tendência semelhante das variáveis K e Zn. As variáveis Ca, K, Zn apresentaram contribuições similares para o PC1, isto foi verificado pelas variáveis que têm vetor de maior comprimento e que foram mais próximas ao eixo PC1, mostrando que as mesmas possuem correlação, pois formam um ângulo agudo entre elas. Assim, as variáveis S e P apresentaram contribuições similares para o PC2, pois o comprimento de seu vetor está mais próximo da PC2 e forma um ângulo agudo entre si. A PS1 e PS2 foram capazes de explicar 59,7% das variáveis. Concluiu-se que a utilização de esgoto doméstico proporcionou um incremento de Cu, Fe, Zn, S e P nas folhas. A água de abastecimento proporcionou um incremento de Ca nas folhas e o reúso de efluente proporcionou um incremento de micronutrientes ao milho.

Palavras-chave: Água Residuária. Nutrição. Análise de Componentes Principais. Zea mays L.

ABSTRACT

Challenges associated with agriculture through irrigation and the high water scarcity currently requires alternative means of irrigation. The purpose of this study was to evaluate the nutritional impacts in grasses irrigated with sewage effluent treated by stabilization ponds combined with chemical fertilization. The experiment was carried out at the Meteorological Station of the Federal University of Ceará. Corn was grown in plastic pots, in a factorial scheme, 2x4, related to the types of water (effluent and water supply x levels of fertilization (NPK)), in a completely randomized design with 4 replications and 10 treatments. Principal Component Analysis was used in order to reduce the dimensions of the original variables without loss of information. In order to understand the importance of each variable on construction of the two components, the correlation between original variables and main components presented was calculated. The reduction in dimension of 11 original variables to 2 main components is quite reasonable, the Ca factor is influenced by the supply water used in this experiment and the S and P factors are influenced by irrigation with treated sewage effluent. A contrast between the variables Ca and N and a similar trend of the variables K and Zn were observed. The variables Ca, K, Zn showed similar contributions to PC1, this was verified by the variables that have a longer vector and is closer to the axis PC1, showing that they have a correlation, as they form an acute angle. Thus, variables S and P showed similar contributions to PC2, as the length of their vector is closer to PC2 and forms an acute angle to each other. PS1 and PS2 were able to explain 59.7% of the variables. It was concluded that use of domestic sewage provided an increase in Cu, Fe, Zn, S and P in the leaves. The supply water provided an increase of Ca in the leaves and the reuse of effluent provided an increase of micronutrients to the corn.

Keywords: Wastewater. Nutrition. Principal Component Analysis. Zea mays L.

4.1 INTRODUÇÃO

Uma série de fatores afetam a produção de alimentos no mundo como clima, degradação ambiental e poluição, gerando um indicador de insegurança alimentar, com grave aumento do preço internacional dos mesmos, dificultando o acesso em todo o mundo e deixando mais de um bilhão de pessoas subnutridas (CORNIA *et al.*, 2016).

O impulso para a disponibiliza-los vem aumentando e as atividades agrícolas estão voltadas para esse movimento uma vez que a produção de colheitas durante todo o ano só é possível por uma irrigação boa e eficaz, o que requer um volume considerável de água (VANHAM *et al.*, 2018). A segurança alimentar está intimamente relacionada à segurança hídrica e muitos países têm abastecimento de água inadequado para atender às demandas do setor agrícola (ELLIOTT *et al.*, 2014; KANG *et al.*, 2017).

Os desafios associados à agricultura por meio da irrigação são enormes, sendo o principal a alta escassez hídrica, atualmente, experimentada globalmente (YANG *et al.*, 2016). Notavelmente, essa prática também induziu algumas questões ambientais como o uso intensivo de fontes hídricas que levou à cessação dos fluxos de águas superficiais e à superexploração dos recursos de água subterrânea (ZHAO *et al.*, 2018). Como consequência, esse método tem uma influência positiva no aumento do rendimento, mas também consumiu recursos hídricos consideráveis e levou a uma série de questões ambientais, sendo crucial obter uma compreensão quantitativa dos trade-offs entre aumento de produtividade, insumos de água e custos ambientais em agroecossistemas irrigados.

Esses fatos mostram que, apesar do aumento da conscientização ambiental e do entendimento de que a água é um recurso limitado em muitas regiões do planeta, melhorias relevantes ainda são necessárias para alcançar práticas sustentáveis de utilização da mesma. Esses aspectos foram destacados na definição dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável e, especificamente, no ODS 6, onde a reutilização de recursos hídricos é claramente incluída como uma prática que requer atenção específica (BRASIL, 2019).

As vantagens desta prática são representadas por um fornecimento contínuo e estável, especialmente durante os períodos de pico de demanda de água. Além disso, também permite a recuperação de nutrientes, resultando em uma redução no uso de fertilizantes químicos, contribuindo a médio prazo para diminuir as concentrações de nutrientes em corpos d'água naturais (TRAN *et al.*, 2016).

A maioria das atividades com carácter sustentável e de demonstração sobre a reutilização de águas residuais tratadas na irrigação baseia-se na adoção de águas residuais

municipais como fonte (PEDRERO *et al.*, 2010). Neste caso, a abordagem baseia-se normalmente em melhorar as estações de tratamento de águas residuais existentes (ETAR), com a introdução de tratamentos terciários.

Vários estudos comprovaram a eficiência de várias tecnologias na produção de efluentes municipais recuperados em conformidade com os padrões para reutilização (NORTON-BRANDÃO *et al.*, 2013). Em particular, a filtração por membranas seguida de desinfecção mostrou ser a mais confiável e eficaz para esse fim (POLLICE *et al.*, 2004).

O presente estudo teve como objetivo avaliar os impactos nutricionais em milho irrigados com efluente de esgoto tratado por lagoas de estabilização combinados com fertilização química.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Estação Meteorológica da Universidade Federal do Ceará, do Centro de Ciências Agrárias localizada no município de Fortaleza/CE com coordenadas de latitude 3°44'S e na longitude 38°33'W na altitude de 20 m. O clima é do tipo Aw'i, segundo a classificação de Köppen, caracterizando - se como tropical chuvoso com precipitações de verão e temperatura média do mês mais frio superior a 18°C.

O regime hídrico é variável, pois há anos em que ocorrem chuvas excessivas e anos em que a precipitação é escassa, tendo períodos com estiagem prolongada. A distribuição da chuva é irregular, entretanto, em torno de 90% das precipitações ocorrem no primeiro semestre, sendo em geral os meses de março a maio os mais chuvosos (COSTA; SILVA, 2017).

A pesquisa foi desenvolvida no período de fevereiro a março de 2015, utilizando para irrigação efluente da Estação de Tratamento de Esgoto do Campus do Pici, na Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza. O sistema de tratamento é do tipo lodos ativados com aeração prolongada, recebendo águas residuárias com características de esgoto doméstico.

O milho híbrido foi cultivado no latossolo vermelho amarelo em vasos plásticos com capacidade de 10 litros. Foram semeadas 4 sementes por vaso desbastadas para 2 plantas após 15 dias da semeadura, foi estabelecido um esquema fatorial 2x5 (tipos de água x níveis de adubação (NPK), em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições. Nesse caso, foram aplicados 10 tratamentos:

- T1 (água de abastecimento sem adubação mineral);
- T2 (água de abastecimento com 25% da adubação mineral recomendada);
- T3 (água de abastecimento com 50% da adubação mineral recomendada);

- T4 (água de abastecimento com 75% da adubação mineral recomendada);
- T5 (água de abastecimento com 100% da adubação mineral recomendada);
- T6 (água de efluente de esgoto doméstico tratada sem adubação mineral);
- T7 (água de efluente de esgoto doméstico tratada com 25% da adubação mineral recomendada);
- T8 (água de efluente de esgoto doméstico tratada com 50% da adubação mineral recomendada);
- T9 (água de efluente de esgoto doméstico tratada com 75% da adubação mineral recomendada);
- T10 (água de efluente de esgoto doméstico tratada com 100% da adubação mineral recomendada).

A irrigação foi realizada com o efluente da Estação de Tratamento de Esgoto e com água fornecida pela Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE). A irrigação da água no experimento foi realizada com a lâmina aplicada equivalente a 85% da evaporação diária do tanque classe A, localizado na região do estudo.

Os níveis de adubação de N (Nitrogênio), P (Fósforo) e K (Potássio) foram 0, 25, 50, 75, e 100 por cento da adubação recomendada para a cultura.

O solo utilizado no experimento é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, de textura franca arenosa, segundo análise de solo (EMBRAPA, 1999). As características físicas e químicas do solo são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise química do solo utilizado no experimento.

Características químicas											
MO	N	Ca ⁺²	K ⁺	Mg ⁺²	Na ⁺	H ⁺ +Al ³⁺	SB	CTC	V	P	pH
g.Kg ⁻¹		cmol _c .dm ⁻³					%		mg.Kg ⁻¹		
9,41	0,51	0,70	0,15	0,60	0,06	3,14	1,5	4,1	33	3	4,2

Os dados analisados em componentes principais e a regressão linear entre as variáveis e seus componentes foram analisadas utilizando o programa estatístico R (R Development Core Team, 2008).

A folha amostrada para realização das análises foi a do início do perfilhamento (mediana), o material coletado foi seco em estufa de circulação fechada de ar a 65°C, até obter

peso constante e posteriormente foram moídas em moinho do tipo Willey segundo Malavolta (1992).

Os teores de N foram determinados em soluções obtidas de extratos preparados por digestão sulfúrica pelo método micro-Kjeldahl, (TEDESCO *et al.*, 1995). Após obtenção dos extratos foi realizada a determinação dos nutrientes por meio do uso de equipamentos específicos. Para o nitrogênio foi utilizado o método de titulação com o destilador Kjeldahl.

Os elementos cálcio, magnésio, boro e zinco foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O fósforo foi determinado com utilização do fotocolorímetro e o potássio com uso do fotômetro de chama. Todas as análises foram realizadas, com as quatro repetições, nos laboratórios do Departamento de Ciência do Solo da Universidade Federal do Ceará – UFC.

A análise da água e efluente utilizado na irrigação do milho encontra-se na tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros químicos da água de abastecimento e do efluente de esgoto doméstico tratado utilizado na irrigação do milho.

PARÂMETROS	ÁGUA DE ABASTECIMENTO	ÁGUA DE REUSO
Cálcio (mg.L ⁻¹)	15,8	43,5
Magnésio (mg.L ⁻¹)	15,9	26,2
Sódio (mg.L ⁻¹)	18,9	53,5
Potássio (mg.L ⁻¹)	9,8	25,1
Cloro (mg.L ⁻¹)	35,8	91,5
Fósforo (mg.L ⁻¹)	0,2	12,3
CE (dS cm ⁻¹)	0,203	0,659
Ph	6,2	7,8
DBO (mg O ₂ L ⁻¹)	15,9	35,6
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	70,9	110,7

Foi utilizado como método estatístico multivariado a Análise dos Componentes Principais (ACP), onde foram incluídos os tratamentos sendo eles: efluente utilizado na irrigação e a água de abastecimento combinado as doses de N, P e K e as variáveis resposta dos nutrientes na composição foliar.

Essas correlações foram classificadas de acordo com Coelho (2005), em que o critério para classificação dos autovetores (valores que representam o peso de cada caractere, em cada componente, e variam de -1 a +1).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados obtidos com as variáveis estudadas e com a utilização da técnica dos componentes principais, foram obtidos os respectivos autovalores e porcentagem da variância que estão apresentados na tabela 6. Os dois primeiros CPs foram responsáveis por 59,7% da variância total dos dados, sobre os tipos de água utilizada a irrigação aliada as proporções de NPK recomendada para a cultura, em que o CP1 foi responsável por 37,3% da variância dos dados e o CP2 foi responsável por 22,4% da variância dados.

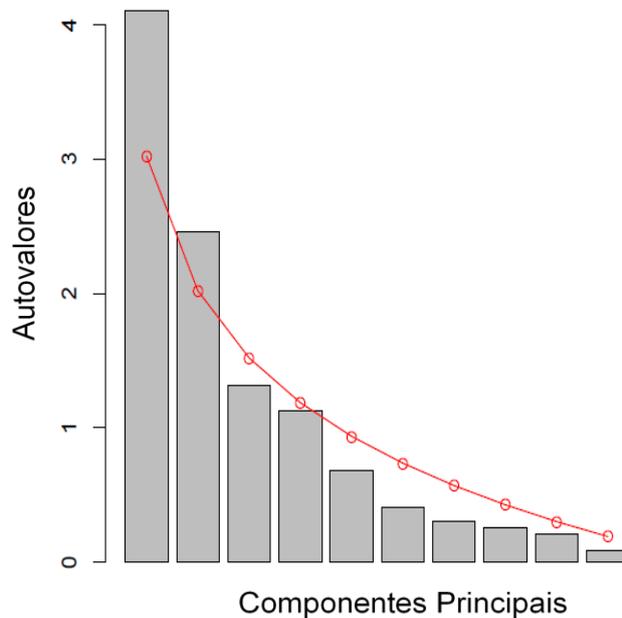
Tabela 6 - Componentes principais (CPs), autovalores (λ), Porcentagem de variância explicada e Proporção acumulada pelos componentes.

Componente Principal	Autovalores (λ)	Proporção	Proporção Acumulada (%)
CP1	2,03	37,4	37,4
CP2	1,57	22,4	59,8
CP3	1,15	12	71,8
CP4	1,06	10,2	82
CP5	0,82	6,1	88,1
CP6	0,64	3,7	91,8
CP7	0,55	2,7	94,5
CP8	0,51	2,4	96,9
CP9	0,46	1,9	98,8
CP10	0,29	0,8	99,6
CP11	0,22	0,4	100

O critério de Kaiser (1958) foi utilizado com o objetivo de selecionar os componentes principais (CPs) que explicam a maioria da variação dos dados. Esse critério obtém CPs com valores próprios maiores do que a unidade ($\lambda_i > 1$), isto é, os principais componentes que explicam a maior parte da variação no conjunto de dados (SAVEGNAGO et al., 20011)

Os dois CPs foram selecionados, com o auxílio do *screepplot* (Figura 5) e estão apresentados na Tabela 7. Destacam-se os dois primeiros componentes principais, pois estes resumem efetivamente a variância amostral total e podem ser utilizados para o estudo do conjunto de dados.

Figura 5 - O *screepplot* dos autovalores dos componentes principais.



Como intuito de se entender a importância de cada variável na construção dos dois componentes foi calculado a correlação entre as variáveis originais e os componentes principais, apresentados. Com a seleção de dois componentes principais, a redução da dimensão de 11 variáveis originais foi reduzida a 2 CPs para facilitar a análise.

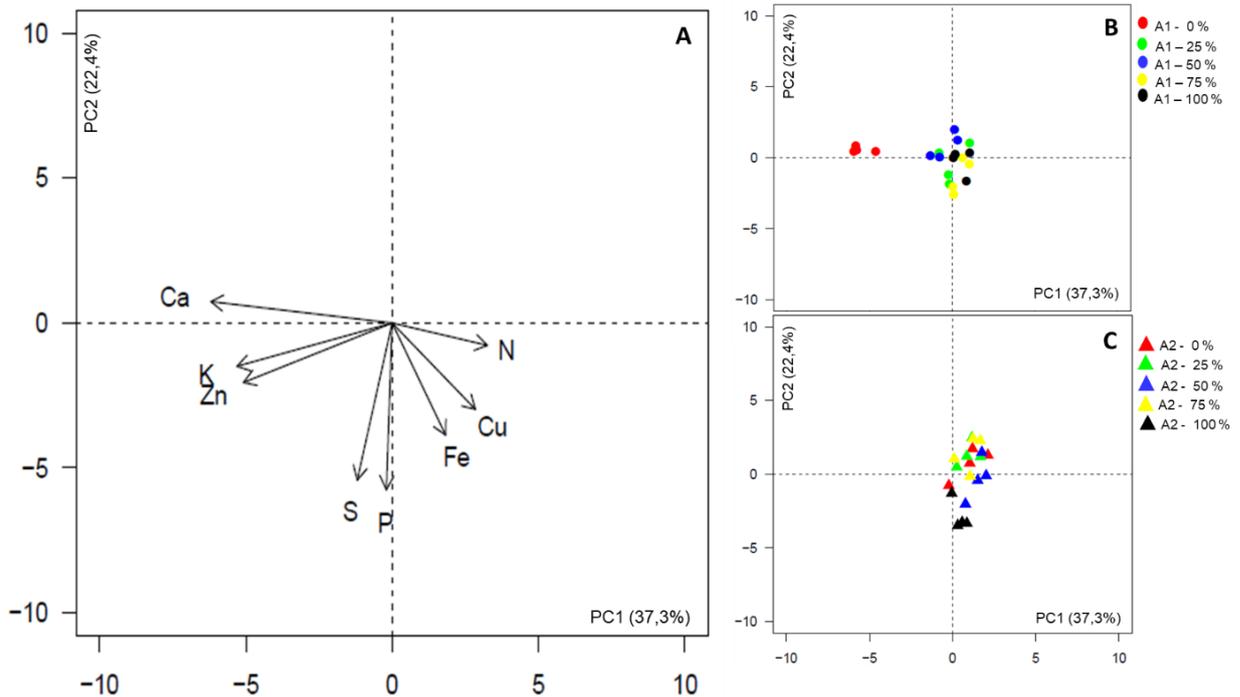
Tabela 7 - Coeficientes de ponderação das características e seus coeficientes de correlações.

Variável	Coeficiente de Ponderação		Correlação	
	CP1	CP2	CP1	CP2
Fe	0,1386	-0,3791	0,2809	-0,595
Mn	-0,0565	-0,3028	-0,115	-0,475
Cu	0,2159	-0,2920	0,4376	-0,458
Zn	-0,3856	-0,2011	-0,781	-0,316
Ca	-0,4698	0,0724	-0,952	0,1135
Mg	-0,3730	0,0410	-0,756	0,0643
Na	-0,4371	0,0600	-0,886	0,0953
K	-0,4023	-0,1464	-0,815	-0,23
P	-0,0149	-0,5641	-0,03	-0,885
S	-0,0904	-0,5318	-0,183	-0,834
N	0,2469	-0,0755	0,5	-0,119

A ACP foi usada com o intuito para reduzir as dimensões das variáveis originais sem perda de informação. Por definição, a correlação entre os principais componentes é zero, isto é, a variação explicada em CP1 é independente da variação explicada em CP2 e assim por diante. Isto implica que para qualquer componente principal não vai causar uma resposta correlacionada em termos de outros componentes principais, isto é, eles são ortogonais (SAVEGNAGO *et al.*, 2011; FRAGA *et al.*, 2015).

A análise da figura 6 permite constatar que o fator Ca é influenciado pela água de abastecimento utilizada no experimento e os fatores S, P são influenciados pela irrigação com efluente de esgoto tratado.

Figura 6 - Gráfico de análise de componentes principais: **A** - Biplot do CP1 x CP2 com as variáveis explicativas A1 (água de poço) e A2 (água de abastecimento) e as variáveis resposta em diferentes níveis; **B** - Nuvem de pontos das variáveis relacionadas a A1 (água de poço); **C** - Nuvem de pontos das variáveis relacionadas a A2 (Efluente).



Foi observado de o Ca é influenciado pela água de abastecimento, e o mesmo, junto com K e Zn foram similares para CP1. Já o S e P foram influenciados pela irrigação com efluente tratado. Além disso, observa-se um contraste entre as variáveis Ca e N e uma tendência semelhante das variáveis K e Zn.

Estudo realizado por Egbuikwem et al. (2020) destacaram que o enriquecimento de nutrientes do efluente de esgoto tratado por apresentarem compostos tóxicos e elementos prejudiciais nas águas residuais reduziu notavelmente o crescimento vegetativo das plantas (comprimento e largura das folhas). Além disso, os hidrocarbonetos residuais nas águas residuais tratadas limitam o acesso a nutrientes essenciais que sustentam seu crescimento (ADAM; DUNCAN, 2002).

O reuso de água com efluente de esgoto doméstico tratado contém principalmente os macronutrientes essenciais N (nitrogênio) e F (Fósforo) e micronutrientes essenciais Fe (Ferro), Mn (Manganês), Zn (Zinco), Cu (Cobre), Mb (Molibdênio), Bo (Boro), Ni (Níquel) e Co (Cobalto) em quantidades variáveis (LUBELLO *et al.*, 2004; QIAN; MECHAM, 2005). Diante disso, solos irrigados com água de reuso apresentam tendência a melhorar suas condições nutricionais (CHEN *et al.*, 2013). Além disso, os cultivos agrícolas irrigados com efluente a aplicação de P e N pode ser reduzida de 10 a 50 % (YI *et al.*, 2011).

As variáveis Ca, K, Zn apresentaram contribuições similares para o PC1, isto foi verificado pelas variáveis que têm vetor de maior comprimento e que foram mais próximas ao

eixo PC1, mostrando que as mesmas possuem correlação, pois formam um ângulo agudo entre elas. No entanto, as variáveis S e P apresentaram contribuições similares para o PC2, pois o comprimento de seu vetor está mais próximo da PC2 e forma um ângulo agudo entre si.

Existem correlações altas entre as variáveis K e Zn, pois formaram ângulos agudos entre as variáveis, também as variáveis S, P, Fe e Cu.

As correlações entre N, Cu e Fe, corroboram com estudo realizado por Favarim *et al.* (2008) que relacionam sistemas de produção que utilizam altas doses de N precisam ter maior atenção nas aplicações de micronutrientes. Em pesquisa realizada por Ferreira *et al.* (2001) teve como resultado uma absorção mais elevada de Cu e Mn, que foi estimada pelo aumento linear na concentração foliar, relacionada a aplicação de doses elevadas de N.

A irrigação não controlada com RWW com fertilização adicional, no entanto, pode levar ao acúmulo de N no solo (RUSAN *et al.*, 2007) e à lixiviação do excesso de N como nitrato da zona radicular para as águas subterrâneas ou superficiais, prejudicando sua qualidade e usabilidade (JADOSKI *et al.*, 2010).

Segundo Favarim *et al.* (2008) essa tendência pode estar relacionada ao fato do N proporcionar um volume radicular maior pois promove a acidificação da rizosfera, em decorrência da nitrificação ou absorção do amônio. Ainda segundo o mesmo autor há uma interação entre adubação nitrogenada e necessidade de Cu, Mn e Zn na cultura do milho. Entretanto, analisando os resultados obtidos que corroboram com Cu mas não se aplicam ao Zn.

Constatou-se alta correlação entre as variáveis Ca e K, Malavolta (1992) destacou que a aplicação de pequenas quantidades de K no solo até auxiliam na absorção de Ca pelas plantas. Entretanto, maiores concentrações de K no solo podem promover maior competição pelos sítios de absorção, e, conseqüentemente, menor absorção e acúmulo de Ca na matéria seca de milho (ANDREOTTI *et al.*, 2000)

Diferentemente do que foi observado, os micronutrientes Fe e Cu apresentaram alta taxa de correlação no estudo realizado por Brar *et al.* (2000), que utilizando irrigação com águas residuais contaminadas, evidenciou um aumento na concentração de Cu, Fe, Mn, Zn, Al, Cr e Ni nas folhas de batata e tubérculos de batata.

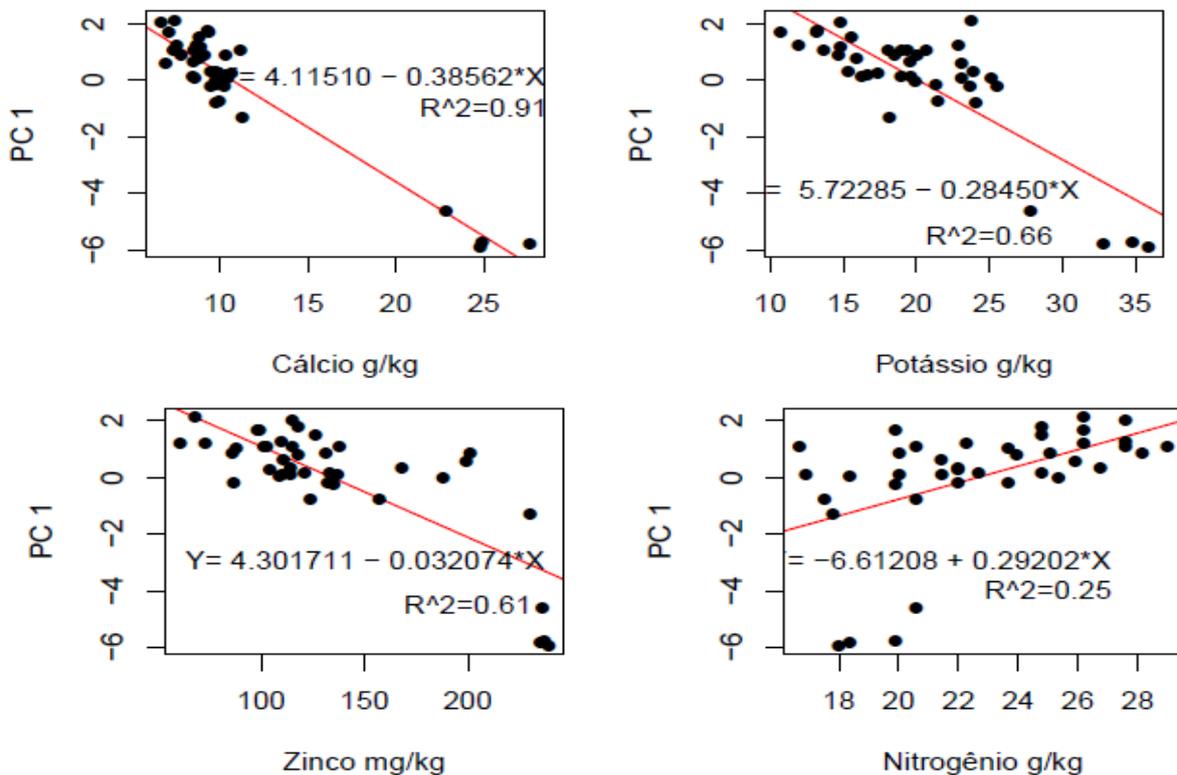
Analisando a aplicação de efluentes de esgoto doméstico na irrigação de alguns cultivos, Avci e Deveci (2013) revelam que altas concentrações de micronutrientes nas porções vegetais do milho (sementes), hortelã (folha), berinjela, pimenta e tomate apresentaram variabilidade significativa entre esses metais relacionadas aos diferentes grupos de plantas.

As águas residuais oriundas de esgoto doméstico em sua maioria possuem quantidades consideráveis de nutrientes vegetais importantes para o crescimento dos cultivos agrícolas, como N, P e K, que influem no crescimento e o rendimento das plantas e reduzir a demanda por fertilizantes químicos (Fonseca *et al.*, 2007; Jung *et al.*, 2014). Ainda, a utilização de efluentes de esgoto tratado foi sugerido como fornecedor de micronutrientes importantes, como o Fe e o Zn (Pereira *et al.*, 2012). Portanto, o uso controlado de efluente pode diminuir a aplicação de fertilizantes e, assim, os custos ambientais e econômicos.

Os nutrientes S e P apresentaram alta correlação, segundo Favarim (2008), há interação entre P e S já é conhecida em diversos estudos, afetando de maneira recíproca os níveis críticos desses elementos no solo. Além disso, o excesso de S pode comprometer algumas vias metabólicas em casos que apresentarem ausência de P e a suplementação conjunta de P e S promove um maior crescimento e desenvolvimento nas culturas.

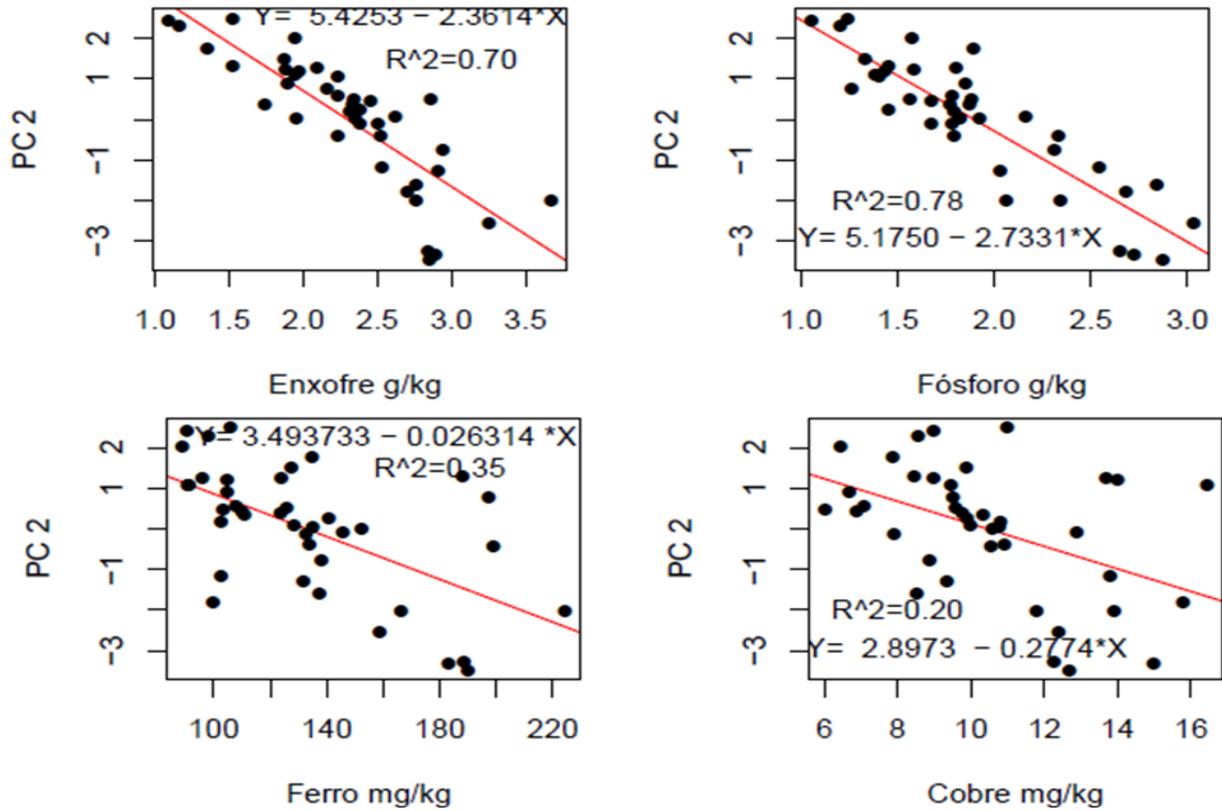
A figura 7 evidencia as relações de cada variável com o PC1. Destacando as variáveis Cálcio, Potássio, Zinco e Nitrogênio, com coeficiente de determinação (R) 0,91, 0,66, 0,61 e 0,25.

Figura 7 - Regressão linear das variáveis mais relacionadas ao PC1.



A figura 8 evidencia as relações de cada variável com o PC2. Destacando as variáveis Enxofre, Fósforo, Ferro e Cobre, com coeficiente de determinação (R) 0,70, 0,78, 0,35 e 0,20.

Figura 8 - Regressão linear das variáveis mais relacionadas ao PC2.



4.4 CONCLUSÃO

A PC1 e PC2 foi capaz de explicar 59,8% da variabilidade dos dados originais. Assim, um dos objetivos de utilizar-se da ACP é reduzir o número de componentes estudados, podendo considerar que esse objetivo foi atingido pelo estudo.

Concluiu-se com o estudo alta taxa de correlação ente N, Cu e Fe. Além desses nutrientes temos alta correlação entre Ca e K; Fe e Cu. O que favorece o desenvolvimento do milho.

A utilização de efluentes de esgoto doméstico tratado proporcionou um incremento no teor de micronutrientes na folha, principalmente Cu, Fe, Zn, S e P.

A utilização de água de abastecimento promoveu um incremento na concentração foliar de Cálcio na planta.

O efluente de esgoto doméstico forneceu suplementação nutricional com micronutrientes ao milho via irrigação.

CAPÍTULO II

CRESCIMENTO DE *CHLORELLA VULGARIS* E *SCENEDESMUS OBLIQUUS* EM EFLUENTE DE VÍSCERAS DE TILÁPIA DO NILO PROCESSADO EM REATOR UASB

RESUMO

As microalgas têm ganhado destaque como matéria-prima promissora e sua biomassa tem sido utilizada na produção de biogás, biocombustíveis, nas indústrias alimentícia, nutracêutica e farmacêutica. A tilápia é um dos peixes mais consumidos no Nordeste e a utilização de seus rejeitos para produção de efluente, óleo e ração tem se mostrado como uma alternativa sustentável. O objetivo da pesquisa foi de avaliar o efluente processado das vísceras de tilápia como meio de cultivo para análise de crescimento em duas espécies de microalgas: *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Processos (LPPD) no Parque Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) na UFC. As vísceras foram moídas e fermentadas em reator tipo UASB. O efluente foi distribuído em erlenmeyer de 500mL e diluído com água destilada contendo 4 percentuais (25, 50, 75 e 100%) com 3 repetições, mantidos em câmaras com fotoperíodo de 12h claro/escuro e 2500 Lux de iluminância fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W e temperatura de 30°C. O crescimento da *Chlorella vulgaris* foi satisfatório em efluente 25%, indicado pela fase exponencial longa e densidade celular máxima alcançada em 35 dias de cultivo. Em relação a *Scenedesmus obliquus*, o crescimento foi satisfatório no efluente 50%, mostrando eficiência nutricional adequada para a obtenção de todas as fases de crescimento e máxima densidade celular em 28 dias, sem inanição das células ou morte celular durante o cultivo como o ocorrido nos efluentes a 50%, 75% e 100%.

Palavras-chave: Microalgas, *Oreochromis niloticus*, Reator UASB, Reuso de efluentes

ABSTRACT

Microalgae have gained prominence as a promising raw material and their biomass has been used in the production of biogas, biofuels, food, nutraceutical and pharmaceutical industries. Tilapia is one of the most consumed fish in the Brazilian Northeast and the use of its tailings to produce effluent, oil and feed, has been shown to be a sustainable alternative. The purpose of this research was to use processed effluent from the offal of tilapia as a culture medium for growth analysis in two species of microalgae: *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*. This research was developed at the Product and Process Development Laboratory (LPPD). The viscera were ground and fermented in a UASB type reactor. The effluent was distributed in a 500mL conical flask and diluted with distilled water containing 4 percentages (25, 50, 75 and 100%) with 3 repetitions, kept in chambers with 12h light / dark photoperiod and 2500 Lux of illuminance provided by fluorescent lamps of 40W and temperature of 30 ° C. The growth of *Chlorella vulgaris* was satisfactory in 25% effluent, indicated by the long exponential phase and maximum cell density reached in 35 days of cultivation. In relation to *Scenedesmus obliquus*, the growth was satisfactory in the effluent 50%, showing adequate nutritional efficiency to obtain all phases of growth and maximum cell density in 28 days, without starvation of cells or cell death during cultivation, as occurred in effluents at 50%, 75% and 100%.

Keywords: Microalgae, Tilapia, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, USB reactor, effluents.

5.1 INTRODUÇÃO

Diante do cenário do crescimento populacional e do aumento do consumo de alimentos, tem-se consumido muitos pescados, principalmente peixes, em especial a tília (*Oreochromis niloticus*). Essa espécie é originária da África, encontrado nas bacias dos rios Nilo, Níger e nos lagos do centro-oeste principalmente no Chade e pertence à ordem Perciformes. As pesquisas para a criação desse peixe tiveram início no Congo Belga (atual Zaire), no começo do século XIX. A partir de 1924 sua criação foi intensificada no Quênia e sua expansão para outras partes do mundo se deu a partir da Malásia (CAMPO, 2008; VICENTE *et al.*, 2014).

A produção comercial dessa espécie em cativeiro é a que mais cresce atualmente, sendo a segunda mais cultivada no mundo e a primeira no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A tília apresenta grande adaptação ao sistema de produção em tanques-redes, no entanto, dados apontam que a mesma apresenta grande desempenho e adaptação em sistemas intensivos de produção (FURLANETO *et al.*, 2006).

Os sistemas intensivos de produção (tanque-rede e gaiolas) têm como característica a contínua renovação da água, o que promove a remoção dos metabolitos e dejetos produzidos pelo peixe, mantendo assim a qualidade de água (VICENTE; FONSECA-ALVES, 2013).

As indústrias de beneficiamento de pescado geram grandes quantidades de resíduos, devido principalmente à falta de reconhecimento desses produtos como matéria prima e fonte para outros fins. No beneficiamento dos peixes é gerado como resíduo a cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, pele, escamas e restos de carne, que podem chegar a representar 50% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e o tipo de processamento (PESSATTI, 2001).

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes, portanto dotados de clorofila. Estão presentes em sistemas aquáticos ou zonas úmidas, praticamente em todas as longitudes, latitudes e altitudes do globo (BICUDO; MENEZES 2020; LARKUM *et al.*, 2012). As microalgas são organismos com exigência nutricionais simples, para crescimento e que podem produzir lipídios, proteínas e carboidratos, em curto período de tempo (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Hoje as pesquisas buscam o desenvolvimento de métodos de cultivo de microalgas eficientes que diminuam os custos de produção. A utilização de águas residuárias como meio alternativo pode ser uma forma de diminuí-los, o que agregaria o conceito de reuso da água e

produção de biomassa com valor de mercado aos sistemas de tratamento de efluentes (PITTMAN *et al.*, 2011).

Microalgas são capazes de acumular em certas condições de cultivo acima de 50% de seu peso seco em carboidratos, sendo que a composição e o metabolismo destes compostos podem diferir significativamente de uma espécie para outra (HO *et al.*, 2012).

Algumas pesquisas já testaram meios alternativos de cultivo para microalgas em laboratório, como: efluente da suinocultura (RODRIGUES; FILHO, 2004; BERTOLIN *et al.*, 2005), meio à base de esterco de suíno (TAVARES, 2008), meio enriquecido com substâncias inorgânicas (SEBASTIEN; KLEIN, 2006), esgoto sanitário (ÓRPEZ *et al.*, 2009), entre outros.

No Ceará foi observado pelo Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS), que muitos pescadores das comunidades do entorno do açude Castanhão, tratavam os peixes e jogavam as vísceras na água e com isso surgiram projetos com intuito de utilizá-las como fonte de nutrientes para as microalgas bem como geração de bioprodutos para diminuir os impactos ambientais (MONTEIRO; NORÕES; ARAUJO, 2018)

Diante do exposto, o objetivo da pesquisa foi de utilizar efluente processado das vísceras de tília como meio de cultivo para análise de crescimento em duas espécies de microalgas: *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Processos (LPPD), dentro do Parque de Desenvolvimento Tecnológico (Padetec) na Universidade Federal do Ceará- UFC.

As vísceras foram fornecidas pela empresa PICIS, localizada no município de Jaguaribara junto ao açude Castanhão, em tambores de 50 litros. Para o preparo do efluente, inicialmente as vísceras eram moídas para facilitar a separação da fração oleosa (lipídios) por cocção seguida de fermentação anaeróbica da matéria orgânica em reator tipo UASB, na proporção de 2:1 (dois tambores de vísceras para um de água destilada), em seguida a carga orgânica residual (o efluente) foi separada e utilizada como meio de cultivo de microalgas.

Para a realização da caracterização física, química e físico-química do efluente bruto foram feitas as determinações das variáveis: nitrogênio total, nitrogênio amoniacal, fósforo total, ortofosfato, demanda química de oxigênio (DQO) conforme recomendações do Standard Methods, BREMNER (1965); APHA (2012). Também foram determinados: pH e

condutividade com pHmetro VWR SympHony, e a turbidez, com turbidímetro Alfakit Plus V1.25.

Os materiais utilizados no cultivo foram previamente esterilizados em autoclave, em temperatura de 121°C, sob 1 atm por 20 min. O efluente foi distribuído em erlenmeyer de 500mL e diluído com água destilada contendo 4 percentuais (25, 50, 75 e 100%) com 3 repetições. Foram utilizadas duas espécies de microalga, *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*. Os cultivos tiveram duração de 25 dias e concentração inicial de inóculo de 1×10^6 cél/mL. Os erlenmeyers foram mantidos em câmaras com fotoperíodo de 12h claro/escuro e 2500 Lux de iluminação fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W e temperatura de 30°C (Figuras 9 e 10).

Figura 9 - Cultivo de microalgas em 25, 50, 75 e 100 % de efluente, PADETEC-UFC, Fortaleza-CE, 2019.



Figura 10 - Diluições do efluente de vísceras de tilápia utilizado no cultivo de microalgas. A- 25% de efluente de víscera de Tilápia; B- 50% de efluente de víscera de Tilápia; C – 75% de efluente de víscera de Tilápia; D – 100% de efluente das vísceras de Tilápia, PADETEC-UFC, Fortaleza CE, 2019.



A contagem foi realizada semanalmente até 35 dias após inoculação, em câmara de Neubauer e absorvâncias analisadas em espectrofotometria UV. Os dados foram colocados em uma curva de crescimento (concentração celular x dias de cultivo), adotada como ferramenta padrão para análise do crescimento (LIRA *et al.*, 2012), e para a construção da reta de regressão no programa Excel.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físicas, químicas e físico-químicas do efluente proveniente de vísceras de tilápia processado em reator do tipo UASB estão descritas na Tabela 8.

Tabela 8 - Caracterização física, química e físico-química do efluente

bruto de víscera de tilápia do Nilo.	
Parâmetros	Valor
Ph	3,89
Condutividade Elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	715
Fósforo Total (mg/L)	28,17
Ortofosfato (mg/L)	24,14
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	216,7
Nitrogênio Orgânico (mg/L)	127,1
Nitrogênio Total (mg/L)	403,5
Carbono Orgânico Total (mg/L)	211,3
DQO (mg/L)	692
Turbidez (NTU)	147

De modo geral, o efluente proveniente de víscera de tilápia caracterizou-se como ácido, com maiores valores de condutividade elétrica, DQO, nitrogênio total, nitrogênio amoniacal e carbono orgânico total, resultados estes semelhantes aos registrados por Almeida et al. (2016) que analisaram o crescimento e absorção de nutrientes das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* no mesmo efluente proveniente de vísceras de tilápia.

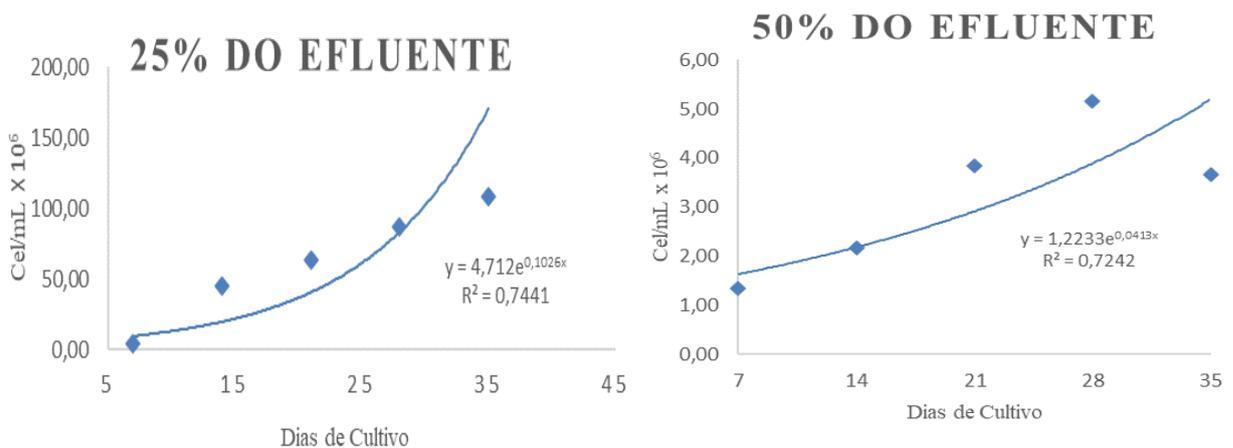
O nitrogênio e fósforo são os macronutrientes essenciais para o metabolismo e constituição celular dos organismos, sendo o ortofosfato a forma principalmente assimilada pelas microalgas (ESTEVES, 2011). Os altos valores do primeiro e considerável valor do segundo evidencia a potencialidade de uso deste efluente no cultivo de microalgas.

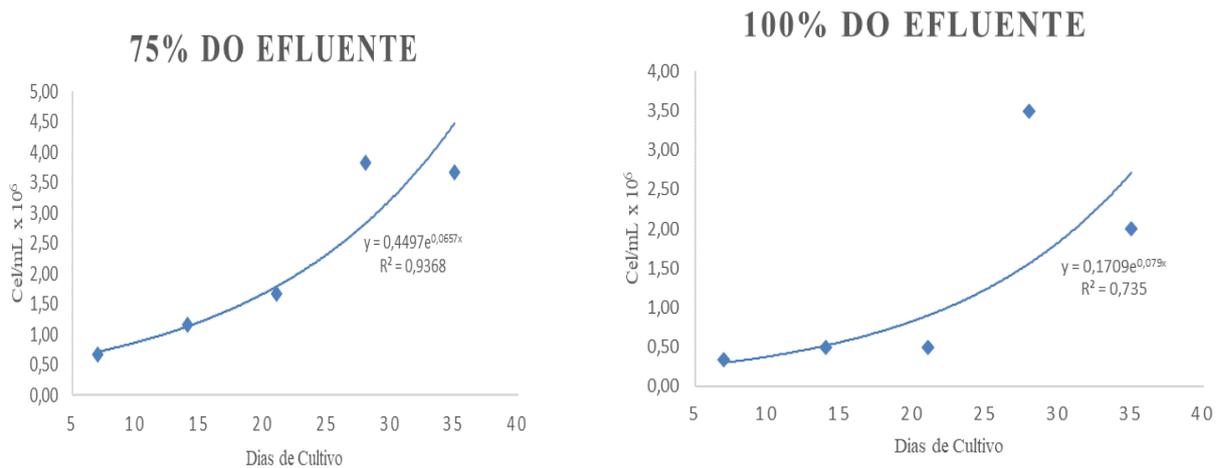
No efluente analisado, o elevado valor de condutividade elétrica sugere a presença de diversos íons que podem se configurar como essenciais para o cultivo de microalgas a partir desse meio. Segundo Kligerman e Bouwer (2015), as necessidades nutricionais das microalgas incluem também diversos micronutrientes em quantidades consideráveis, com limites e relações específicas para cada espécie.

O elevado valor de turbidez se apresentou como parâmetro de interesse para determinar a adequação do efluente de víscera de tilápia para o crescimento de microalgas, o cultivo em efluentes com valor de acúmulo dessa variável, têm-se mostrado mais eficiente para o crescimento, produção de biomassa e acúmulo de reservas de armazenamento (HO *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2015), uma vez que a limitação da penetração de luz pode ser superada aproveitando a capacidade destes organismos em degradar fontes de carbono orgânico em condições de baixa exigência de luz (PAGNANELLI *et al.*, 2014). Esse fato pode ser atribuído ao efluente analisado uma vez que foi observado uma grande quantidade de carbono orgânico.

Com relação a curva de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* ao longo do tempo no efluente à base de víscera de tilápia diluído (Figura 11), pode-se observar uma fase exponencial longa, mostrando a eficiência nutricional do efluente a 25% em 35 dias de cultivo, com abundância de densidade celular de 120×10^6 cél/mL.

Figura 11 - Contagem de microalga *Chlorella vulgaris* em quatro percentuais de efluente a base de víscera de tilápia do Nilo, PADETEC - UFC, Fortaleza-CE, 2019.





Foi possível observar que no 28º dia de cultivo houve surgimentos de outras fases de crescimento quando se alterou as diluições do efluentes. A fase estacionária ocorreu entre o 28º e 35º dias com o uso de efluente a 75% e a fase de declínio ocorreu entre 28º e 35º dias com uso de efluente 50% e efluente a 100% (Figura 11).

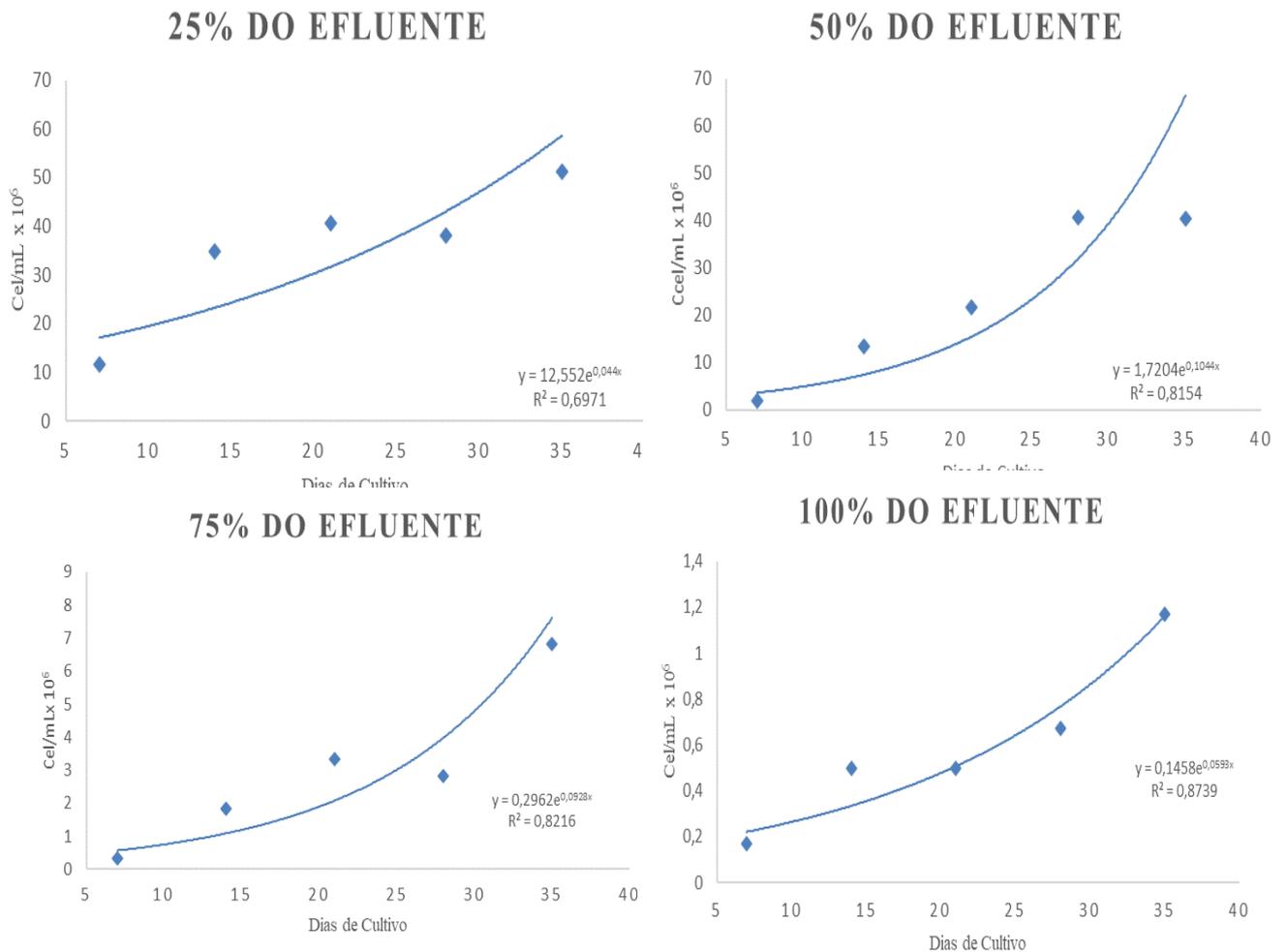
A densidade celular na fase estacionária pode ser caracterizada por pequenos acréscimos e decréscimos na população microalgal, sendo que se faz necessário ajustar com a curva com uma regressão representada graficamente por uma reta (DERNER, 2006).

Dos quatro cultivos (Figura 11), a curva de crescimento que obteve o coeficiente acima de 0,8 foi no tratamento com efluente a 75%, com 0,9368. As curvas devem ter uma correspondência de coeficientes de determinação (R^2) igual ou superior a 0,80, indicando que existe correspondência entre os dados de densidade óptica e número de células, segundo Derner (2006).

Bertoldi *et al.* (2007) avaliaram o crescimento celular e o consumo de nitrato pela microalga *C. vulgaris* em diluições de uma solução hidropônica residual, sendo o melhor crescimento e consumo de nitrato na diluição de 25%. Kumar *et al.* (2010) mostraram que a microalga *C. vulgaris* removeu mais de 85% da amônia total de um efluente de suinocultura e teve densidade celular máxima em dez dias de cultivo, mostrando a eficiência nutricional do uso de efluente para o crescimento celular de microalga.

A curva de crescimento da microalga *Scenedesmus obliquus* ao longo do tempo em efluente à base de víscera de tília diluído (Figura 12), indicou uma fase exponencial longa até 28 dias no efluente 50%, mostrando sua eficiência nutricional com a presença de todas as fases de crescimento adequadamente, e, com abundância de densidade celular de 40 x 10⁶ cél/mL.

Figura 12 - Contagem de microalga *Scenedesmus obliquus* em quatro percentuais de efluente a base de víscera de tília do Nilo, PADETEC - UFC, Fortaleza-CE.



Foi possível observar que no 28º e 35º dias de cultivo houve surgimento da fase estacionária. Nos efluentes 25% e 75%, o crescimento microalgal não é estável, embora ocorra declínio no decorrer do crescimento, provavelmente por adaptação microalgal ao cultivo, e posterior crescimento, o cultivo em efluente 25% apresentou baixa densidade celular e o efluente 100% foi satisfatório, apresentando alta densidade celular (Figura 12).

Nesse sentido, as curvas de crescimento para microalga *Scenedesmus obliquus* mostraram uma regressão logística (R^2) de 0,8154 para efluente 50%, 0,8216 para efluente 75%, 0,8739 para efluente 100% e 0,6971 para efluente 25%, destacando o melhor crescimento microalgal com uso de efluente 100%.

Conforme a finalidade dos cultivos, Shei *et al.* (2008) destacaram que quando produção de microalgas for destinado a alimentação de organismos cultivados em produções

comerciais devem proporcionar condições que permitam a otimização, rápido crescimento da espécie cultivada e menor risco de contaminação das culturas.

Segundo Coêlho *et al.* (2014), o acúmulo de nutrientes em cultivos de peixes pode ser utilizado para crescimento de microalgas, sendo a microalga *S. platensis*, um tipo de microalga com maior densidade celular e alto valor protéico quando cultivado em sistema de recirculação de água de cultivos de tilápia do Nilo.

5.4 CONCLUSÃO

O crescimento de *Chlorella vulgaris* teve um incremento nutricional satisfatório no efluente 75%, indicado pela fase exponencial longa e densidade celular máxima alcançada em 28 dias de cultivo.

Em relação ao cultivo de microalga *Scenedesmus obliquus*, a curva de crescimento indicou uma fase exponencial satisfatória no efluente 100%, mostrando eficiência nutricional adequada para a obtenção de todas as fases de crescimento e máxima densidade celular em 35 dias, sem inanição das células ou morte celular durante o cultivo como observado nos efluentes a 25%, 50% e 75%.

CAPÍTULO III

FLOCULAÇÃO DE *CHLORELLA VULGARIS* SOB AÇÃO DO TEMPO E CONCENTRAÇÕES DE AMIDO CATIÔNICO

RESUMO

As microalgas têm um alto potencial biotecnológico, principalmente pela sua composição química e adaptabilidade a vários tipos de meios de cultivos. A separação da biomassa algal é necessária na produção de bioprodutos, e os seguintes processos vem sendo empregados: filtração, sedimentação, flotação, centrifugação e floculação, dentre estes a floculação por amido catiônico se mostra promissor por baixar custos já que concentra as microalgas antes da centrifugação, reduzindo a demanda de energia. O objetivo da pesquisa foi de identificar o tempo e concentração de flocculante na qual se é obtido à máxima eficiência na floculação da microalga *Chlorella vulgaris*. A microalga utilizada para o cultivo foi a *Chlorella vulgaris* inoculada em câmaras de fluxo horizontal em erlenmeyers de 2L mantidos em fotoperíodo de 12h claro/escuro, 2500 Lux de iluminância fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W e temperatura de 25°C sob aeração constante e pH 6,7. Posteriormente, houve a sedimentação com amidos catiônicos 2040 e 3040 com contagem de células em câmara de Neubauer e medição da absorbância em Espectrofotômetro a 684nm. Os resultados mostraram eficiência de sedimentação de 80% quando a concentração do amido catiônico 2040 foi fixada entre 1,0 e 2,0 g. A eficiência da sedimentação com amido catiônico 3040 foi positiva em concentração entre 0,5 e 1,0 g de amido, sendo esta eficiência de 80% em 60 minutos e melhorando eficiência de 90% em 150 minutos. Assim, concluiu-se que ambos os amidos catiônicos podem ser utilizados na floculação de microalgas, indicando como melhor o amido catiônico 3040 por usar menor concentração com eficiência acima de 80% nos primeiros 60 minutos de floculação.

Palavras-chave: *Chlorella vulgaris*, microalgas, floculação, amido catiônico.

ABSTRACT

Microalgae have a high biotechnological potential, mainly due to their chemical composition and adaptability to various types of crop media. The separation of algal biomass is necessary in the production of bioproducts, and the following processes have been used: filtration, sedimentation, flotation, centrifugation and flocculation, among them the cationic starch flocculation shows promise for lowering costs since it concentrates the microalgae before the centrifugation, reducing energy demand. The purpose of this research was to identify the time and concentration of flocculant at maximum flocculation efficiency of the microalgae *Chlorella vulgaris*. The microalgae used for the cultivation was *Chlorella vulgaris* inoculated in horizontal flow chambers in 2L conical flasks maintained in a 12h light / dark photoperiod, 2500 Lux of illuminance provided by 40W fluorescent lamps and temperature of 25 ° C under constant aeration and pH 6.7. Subsequently, there was sedimentation with cationic starches 2040 and 3040 with cell count in a Neubauer chamber and absorbance measurement in a spectrophotometer at 684nm. The results showed 80% sedimentation efficiency when the cationic starch 2040 concentration was fixed between 1.0 and 2.0 g. The efficiency of sedimentation with cationic starch 3040 was positive in a concentration between 0.5 and 1.0 g of starch, this efficiency being 80% in 60 minutes and improving efficiency by 90% in 150 minutes. Thus, it was concluded that both cationic starches can be used in the flocculation of microalgae, indicating that cationic starch 3040 is better because it uses a lower concentration with efficiency above 80% in the first 60 minutes of flocculation.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, microalgae, flocculation, cationic starch.

6.1 INTRODUÇÃO

As microalgas têm um alto potencial biotecnológico, principalmente devido à sua composição, adaptação a vários tipos de meios de cultivos e diversidade de substâncias sintetizadas por estes microrganismos. Elas são compostas basicamente por lipídios, carboidratos, proteínas, ácidos graxos e uma variedade de moléculas orgânicas complexas, das quais muitas podem ser convertidas em biocombustíveis, enquanto outras podem ser utilizadas na produção de compostos altamente valorados como cosméticos, fármacos e suplementos alimentícios (ZHU, 2015).

Tanto para a produção de bioprodutos, quanto para a extração de compostos de elevado valor comercial, a separação da biomassa algal é necessária, e diversos processos têm sido empregados, sendo os principais: filtração, sedimentação, flotação, centrifugação e floculação (GRIMA *et al.*, 2003; BRENNAN; OWENDE, 2010; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ; BALLESTEROS, 2012). A ideia de aproveitar o conteúdo pleno da biomassa para a produção de diversos compostos é chamada biorrefinaria (FRESEWINKEL *et al.*, 2014).

A escolha do processo adequado de separação da biomassa das microalgas é dependente das características desses microrganismos e do destino dado as mesmas, o método deve ser simples, rápido, eficiente, de baixo custo e utilizar o mínimo possível de energia e reagentes químicos (DANQUAH *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2011; ŞIRIN; CLAVERO; SALVADÓ, 2013).

Em geral, os processos de separação utilizados não são eficientes para todos os tipos de microalgas, sendo que algumas técnicas funcionam melhor para uma espécie do que para outra (CHEN *et al.*, 2011; GRANADOS *et al.*, 2012).

No processo de floculação são utilizados agentes flocculantes polieletrólitos, que agem neutralizando ou reduzindo a carga superficial das células microalgais, ocasionando sua aglutinação, formando flocos que naturalmente sedimentam, ou em alguns casos específicos, flotam. Na escolha do agente flocculante devem ser considerados seu grau de interferência no processamento e uso da biomassa obtida, a eficácia em baixa concentração e o seu custo (BANERJEE *et al.*, 2012; BRENNAN; OWENDE, 2010; BORGES *et al.*, 2011).

A floculação normalmente é utilizada como um pré-tratamento, para posterior utilização de outro método como os citados anteriormente (AMARO; GUEDES; MALCATA, 2011; CASTRILLO *et al.*, 2013; CHRISTENSON; SIMS, 2011; SCHOLZ *et al.*, 2011). Por exemplo, segundo Vandamme *et al.* (2012), concentrar as microalgas por floculação antes da centrifugação poderia reduzir a demanda de energia desta.

Os amidos catiônicos são produzidos por uma reação química entre o amido e reagentes contendo grupos amino, imino, amônio, sulfato e fosfato, sendo os grupos amino mais utilizados (FELTRIN, 2012). Uma das principais características do amido catiônico é a de ser atraído por partículas ou superfícies de cargas opostas (materiais aniônicos) (CEREDA, 2003; FELTRIN, 2012). Isto é de extrema importância no auxílio da floculação de partículas em suspensão na água, ajudando na aglomeração e compactação de matéria que forma conjuntos maiores denominados “flocos”, que por serem maiores e mais densos são fáceis de sedimentar. Isso contribui na melhor clarificação na água que está sendo clarificada (CEREDA, 2003).

A utilização de polímeros catiônicos pode neutralizar ou reduzir a carga superficial negativa das microalgas, promovendo a agregação das células, por meio da ligação célula-floculante-célula, um processo conhecido como *bridging*, fazendo com que sua utilização para separação da biomassa microalgal seja promissora (BORGES *et al.*, 2011; GRIMA *et al.*, 2003).

O objetivo da pesquisa foi de identificar o tempo e concentração de floculante no qual se é obtido à máxima eficiência na floculação da microalga *Chlorella vulgaris*.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Processos (LDPP), dentro do Parque de Desenvolvimento Tecnológico (Padetec) na Universidade Federal do Ceará- UFC.

Os materiais utilizados no cultivo foram previamente esterilizados em autoclave, em temperatura de 121°C, sob 1 atm por 20 min. Foi utilizado meio NPK (Nitrogen: Phosphorus: Potassium), nas proporções mássicas 16:8:32.

A microalga utilizada para o cultivo foi a *Chlorella vulgaris* inoculada em câmaras de fluxo horizontal em erlenmeyers de 2L mantidos em fotoperíodo de 12h claro/escuro, 2500 Lux de iluminação fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W e temperatura de 25°C sob aeração constante e pH 6,7.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 6 x 4 + 1, foram utilizados dois amidos catiônicos (2040 e 3040) nas concentrações (0,1; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0g) em quatro frações do tempo (60, 90, 120 e 150 min) e o controle, cultivo de microalgas sem amido catiônico, feitos em triplicatas.

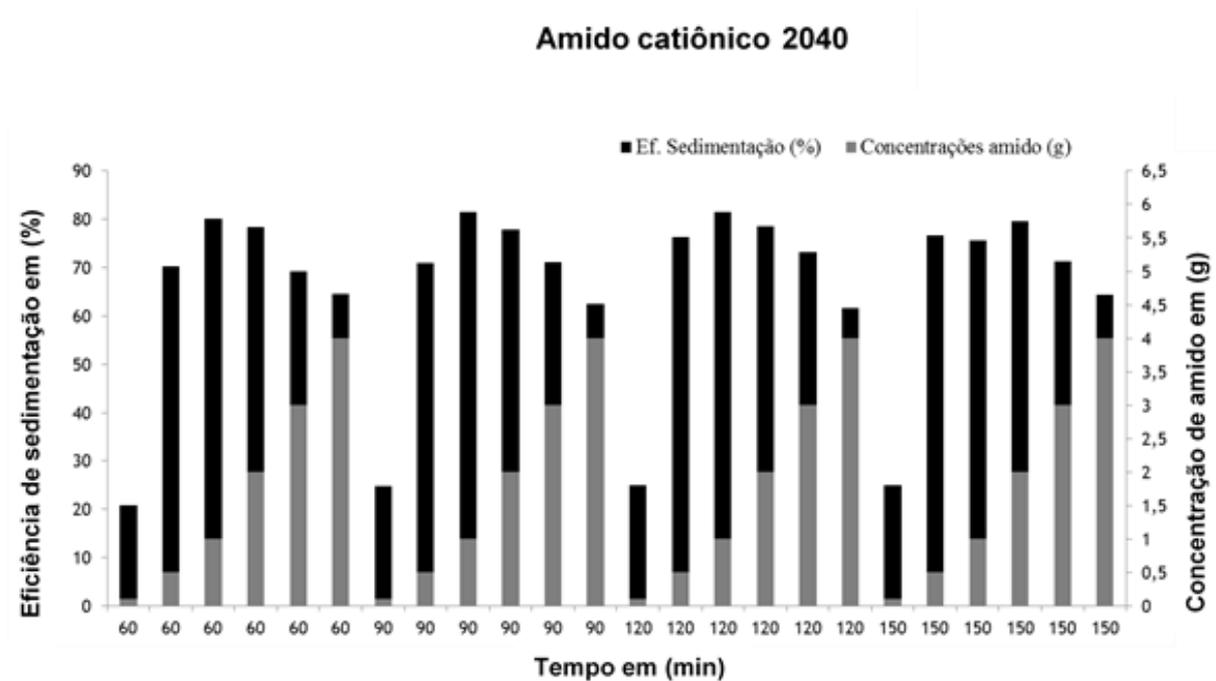
Durante duas semanas, foram feitas 4 contagens em câmara de Neubauer e após, retiradas as 18 amostras de 50 mL do cultivo e colocadas em beakers onde foi aplicado, diretamente, o amido catiônico em pó sob agitação de 1min. Em seguida, as amostras foram

repassadas para tubos falcon até atingir os tempos determinados. A medição da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Spectronic 20 da marca Genesys com feixe de luz de 684 nanômetros.

6.3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Quanto a eficiência da sedimentação da *Chlorella vulgaris* na concentração de amido catiônico 2040 nos períodos de 60, 90, 120 e 150 minutos, foi observado que o volume de sedimentação (VS) é máximo quando a concentração do amido catiônico 2040 foi fixada entre 1,0 e 2,0 g (Figura 13).

Figura 13 - Eficiência da sedimentação da *Chlorella vulgaris* em concentrações distintas de amido catiônico 2040.



A eficiência de floculação com a concentração de amido catiônico 2040 empregada na suspensão de microalgas apresentou significativa eficiência de floculação, em torno de 80%. Vale ainda ressaltar que essa eficiência caiu à medida que se aumentou a concentração de amido catiônico 2040, e o passar do tempo não interferiu na eficiência da sedimentação das microalgas, portanto a aplicação de 60 minutos permitiu uma sedimentação eficiente com o uso de 1,0 a 2,0g de amido catiônico 2040.

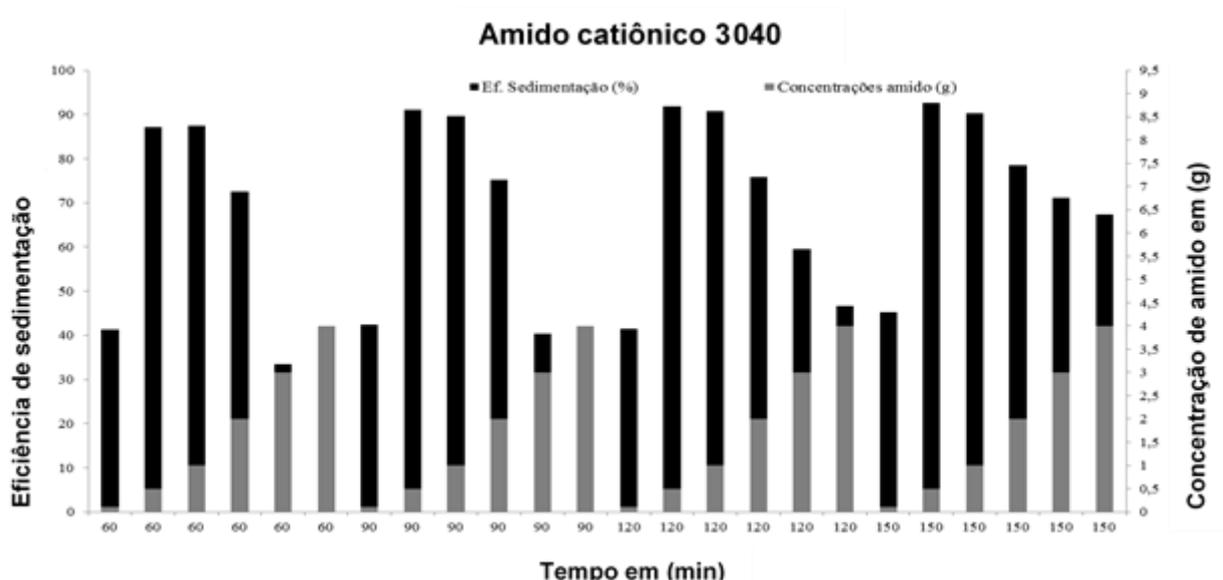
Esses resultados foram também observados pelos autores Beuckels *et al.* (2013) e Vieira (2014), que consideraram um tratamento eficiente quando ocorre uma separação de biomassa acima de 80%.

Morioka *et al.* (2014) também testaram o efeito da floculação com outro flocculante e obtiveram um volume de sedimentação máximo quando usado 2,0g/L de concentração de cloreto de cálcio. Resultado semelhante ao observado nesta pesquisa.

Os melhores resultados encontrados na literatura com a utilização de polímeros naturais foram encontrados utilizando ácido poli- γ -glutâmico na concentração de 38,6 mg por grama de biomassa da microalga marinha *Chlorella vulgaris* em uma salinidade de 11,56 g.L⁻¹ (ZHENG *et al.*, 2012).

Com relação a eficiência da sedimentação da *Chlorella vulgaris* na concentração 3040 de amido catiônico nos períodos de 60, 90, 120 e 150 minutos, os resultados foram positivos obtendo-se uma maior concentração de biomassa em 0,5 e 1,0 g do amido, sendo esta eficiência de 80% em 60 minutos e melhorando eficiência de 90% em 150 minutos (Figura 14).

Figura 14 - Eficiência da sedimentação da *Chlorella vulgaris* em concentrações distintas de amido catiônico 3040.



Resultados esses semelhantes ao de Borges (2014), que observou que a adição de amido influenciou positivamente, aumentando a eficiência de remoção de microalgas até $12,5 \text{ mg.g}^{-1}$, porém ao adicionar uma concentração maior o amido demonstrou uma saturação das cargas resultando em valores menores que o máximo de remoção. Ainda, para valores a partir de 50 mg.g^{-1} , o amido acabou inibindo a remoção de microalgas resultando em eficiências menores do que até mesmo sem o uso do amido.

Resultados obtidos por Vandamme *et al.* (2010) corrobora com o do presente estudo, porém ressaltaram que o amido de milho catiônico foi considerado eficiente para a sedimentação de microalgas de água doce *Parachlorellae Scenedesmus*, mas não para microalgas marinhas *Phaeodactylum* e *Nannochloropsis*.

Já Francisco (2016) destacou que a biomassa de *Chlorella sp.* recuperada a partir do uso de amido catiônico apresentou maior biodegradabilidade em relação às biomassas recuperadas, contudo, o autor utilizou sulfato de alumínio e de tanino modificado juntamente com o amido.

6.4 CONCLUSÃO

Ambos os amidos catiônicos podem ser utilizados na floculação de microalgas, indicando como melhor o amido catiônico 3040 por usar menor concentração com eficiência acima de 80% nos primeiros 60 minutos de floculação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi possível atingir o objetivo central proposto, a utilização dos efluentes demonstraram a potencialidade da reutilização e reciclagem de subprodutos podendo ser uma solução na irrigação eficiente da cultura do milho em termo de fornecimento de nutrientes. Além disso, o efluente proveniente das vísceras de tiápia pode ser uma alternativa no cultivo das microalgas *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*, uma vez que essas espécies se mostraram eficientes na remoção dos nutrientes presente no mesmo, os quais, quando despejados em açudes ou rios sem o devido tratamento, podem favorecer a eutrofização dos aquíferos. Essas microalgas também podem ser utilizadas na produção de proteínas e outros biocompostos.

A utilização do amido catiônico mostrou potencial na otimização no processo de separação e extração da biomassa algal produzida, podendo ser possível sua utilização em meios produtivos, tanto em cultivos realizados em escala piloto, quanto em grandes culturas de cultivos industriais.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELWAHED, M.S. Influence of long-term wastewater irrigation on soil quality and its spatial distribution. **Annals of Agricultural Sciences**, v.63, n.2, p. 191-199, 2018.
- ADAM, G.; DUNCAN, H. Influence of diesel fuel on seed germination. **Environmental pollution**, v. 120, n. 2, p. 363-370, 2002.
- ADEGOKE, A. A.; ISAAC, D.; AMOAH, I. D.; THOR, A.; STENSTRÖM, T. A.; VERBYLA, M. E.; MIHELICIC, J. R. Epidemiological evidence and health risks associated with agricultural reuse of partially treated and untreated wastewater: a review **Front. Public Health**, v.6, n.1, p. 337, 2018.
- AGRAFIOTI, E.; DIAMADOPOULOS, E. A strategic plan for reuse of treated municipal wastewater for crop irrigation on the Island of Crete. **Agricultural Water Management**, v.105, p.57– 64, 2012.
- ALMEIDA, H. G.; MOTA, F.S.B.; CARIOCA, J.A.B.; GOMES, R.B.; BUARQUE, H.L.B. Avaliação do aproveitamento de efluentes na produção de biomassa algal e da biorremediação. **DAE**, v.29, p.69-86, 2016.
- AMARO, H. M.; GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3402-10, 2011.
- AMBROSI, M. A.; REINEHR, C. O.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Propriedades de saúde da microalga *Spirulina*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 115-123, 2008.
- ANDREOTTI, M.; SOUZA, E. C. A.; CRUSCIOL, C. A. C.; RODRIGUES, J. D.; BÜLL, L. T. Produção de matéria seca e absorção de nutrientes pelo milho em razão da saturação por bases e da adubação potássica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 12, p. 2437-2446, 2000.
- ARAD, S.; LEVY-ONTMAN, O. Red microalgal cell-wall polysaccharides: biotechnological aspects. **Current Opinion Biotechnology**, v. 21, n.3, 358–364, 2010.
- ARAÚJO, G. S.; FARIAS, W. R. L. **Utilização de microalgas na biotecnologia, com ênfase para biodiesel e análise de imunoparâmetros em camarões marinhos**. Tese (Doutorado em biotecnologia de recursos aquáticos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- ARAÚJO, R. **Extração do óleo da semente de maracujá por processo enzimático em fase aquoso**. Tese (Doutorado em biotecnologia industrial) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
- AUCEJO, V.; FERRER, J.; GABALDÓN, C.; MARZAL, P.; SECO, A. Toxicity in citrus in Villareal, Spain. **Water Air Soil Pollut**, v. 94, n. (3-4), p. 349–360, 1997.
- AVCI, H.; DEVECI, T. Assessment of trace element concentrations in soil and plants from cropland irrigated with wastewater. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 98, p. 283–

291, 2013.

BAKER, A.J.M., Accumulators and excluders strategies in response of plants to heavymetals. **Journal Plant Nutrition**, v.3, n. (1-4), p. 643-654, 1981.

BANERJEE, C.; GUPTA, P.; MISHRA, S.; SEN, G.; SHUKLA, P.; BANDOPADHYAY R. Study of polyacrylamide grafted starch based algal flocculation towards applications in algal biomass harvesting. **Int J Biol Macromol.**, v. 51, n. 4, p. 456-61, 2012.

BARROS, R. T. V.; CHERNICHARO, C. A. L.; HELLER, L. **Manual de saneamento e proteção ambiental para os municípios**. Saneamento. 5° ed. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2007.

BARROS, K. K. S. **Produção e biomassa de Arthrospira platensis (Spirulina platensis) para alimentação humana**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba. 2010.

BECKER, E.W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 207-210, 2007.

BELTRÃO, M. I. **Cultivo de algas clorofíceas (Ankistrodesmus densus, Chlorella vulgaris e Scenedesmus bijugatus) em resíduos líquidos de indústria de suco de laranja concentrado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 1992.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B.; REBELO, A. M. Bioremoval of nitrogen and phosphorus from hydroponic wastewater by *Chlorella vulgaris*. **Evidência**, v.7, n. 2, p. 85-92, 2007.

BERTOLIN, T. B. P.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M.; HEMKEMEIER, M. Cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis* a partir de efluente sintético de suíno. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, n. 1, p. 118-125, 2005.

BEUCKELS, A.; DEPRAETERE, O.; VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; SMOLDERS, E.; MUYLAERT, K. Influence of organic matter on flocculation of *Chlorellavulgaris* by calcium phosphate precipitation. **Biomass Bioenergy**, v. 54, n. 1, p. 107, 2013.

BICUDO, C. E. de M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil – chave para identificação e descrições**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 3 ed, 2020.

BREMNER, J. M.; KEENEY, D. R. Steam distillation methods for determination of ammonium, nitrate and nitrite. **Analytica Chimica Acta**, v. 32, n. 1, p. 485-495, 1965.

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

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L.B. Revisão: Biotecnologia de Revisão: Biotecnologia de Microalgas. **Boletim CEPPA**, v.26, n. 1, p. 9-20, 2008.

- BERTOLIN, T. B. P.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M.; HEMKEMEIER, M. Cultivo da cianobactéria *Spirulina platensis* a partir de efluente sintético de suíno. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, n. 1, p. 118-125, 2005.
- BORGES, L.; MORON-VILLARREYES, J. A.; D'OCA, M. G. M.; ABREU, P. C. Effects of flocculants on lipid extraction and fatty acid composition of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Thalassiosira weissflogii*. **Biomass Bioenergy**, v. 35, n. 10, p. 4449-54, 2011.
- BHATNAGAR, A.; CHINNASAMY, S.; SINGH, M.; DAS, K. C. Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. **Applied Energy**, v.88, n. 10, p. 3425- 3431, 2011.
- BRAR, M. S.; MAHLI, S. S.; SINGH, A. P.; ARORA, C. L.; GILL, K. S. Sewer water irrigation effects on some potentially toxic trace elements in soil and potato plants in northwestern India. **Canadian Journal of Soil Science**, v. 80, p. 465-471, 2000.
- BRASIL. Agência Nacional do Águas. **ODS 6 no Brasil: visão da ANA sobre os indicadores Agência Nacional de Águas**. – Brasília: ANA, 2019. 94p.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557-577, 2010.
- BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; GARLAND, C. D. **Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review**. Hobart: CSIRO Marine Laboratories (Australia), Report 205, 44 p., 1989.
- CAMPO, L.F.C. LA. **Tilapia roja: una evolucion de 26 años, de la incertidumbre al exito**. México, 2008. 147p.
- CÑIZARES, V. R. O. C. et al. **Las microalgas en la acuicultura**. Cuadernos sobre Biotecnología CINVESTAV IPN: Departamento de Biotecnología y Bioingeniería México, 44 p., 1994.
- CARDOZO, K. H. M.; GUARATINI, T.; BARROS, M. P.; FALCÃO, V. R.; TONON, A. P.; LOPES, N. P.; CAMPOS, S.; TORRES, M.; SOUZA, A. S.; COLEPICOLO, P.;PINTO. E. Metabolites from algae with economic impact. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 146, p. 60–78, 2007.
- CASTRILLO, M.; LUCAS-SALAS, L. M.; RODRIGUEZ-GIL, C.; MARTINEZ, D. High pH-induced flocculation-sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 128, n. 1, p. 324-9, 2013.
- CEREDA, M. P; VILPOUX, O. F. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas: tecnologias, usos e potenciabilidade de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, 2003.

CHEN, C. Y.; ZHAO, X. Q.; YEN, H. W.; HO, S. H.; CHENG, C. L. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. **Biochemical Engineering Journal**, v.78, n. 1, p.1-10, 2013.

CHEN, F.; YING, G.; KONG, L.; WANG, L.; ZHAO, J.; ZHOU, L.; ZHANG, L. Distribution and accumulation of endocrine-disrupting chemicals and pharmaceuticals in wastewater irrigated soils in Hebei, China. **Environ. Pollut**, v.159, n.7, p.1490–1498, 2011.

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

CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A. C.; FORESTI, E.; CYBIS, L. F. Introdução. In: CHERNICHARO, C. A. L. (Coordenador) **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**. ABES. Rio de Janeiro. 2001.

CHO, S.; LUONG, T. T.; LEE, D.; OH, Y.-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**, v.102, n.18, p. 8639–8645, 2011.

CHOCHOIS, V.; DAUVILLEE, D.; BEYLY, A.; TOLLETER, D.; CUINE, S.; TIMPANO, H.; BALL, S.; COURNAC, L.; PELTIER, G. Hydrogen production in *Chlamydomonas*: photosystem II dependent and independent pathways differ in their requirement for starch metabolism. **Plant Physiology**, v.151, n. 2, p. 631–640, 2009.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnol Adv.**, v. 29, n. 6, p. 686-702, 2011.

CHU, W. L.; LIM, Y.W.; RADHAKRISHNAN, A. K.; LIM, P. E. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. **BCM Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, n. 53, p.1472-6882, 2010.

COELHO, A. M. Agricultura de precisão: manejo da variabilidade espacial e temporal dos solos e das culturas. In: CURI, N.; MARQUES, J. J. G. S. M.; GUILHERME, L. R. G.; LIMA, J. M.; LOPES, A. S.; VENEGAS, V. H. A. **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 60 p. v. 1. n. 1. 2005.

COELHO, A. A. C.; BEZERRA, J. H. C.; SILVA, J. W. A.; MOREIRA, R. T.; ALBUQUERQUE, L. F. G.; FARIAS, W. R. L. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo cultivados em um sistema de recirculação de água com microalga *Spirulina platensis*. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v. 15, n.1, p.149-159, 2014.

COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. **Z. Naturforsch**, v. 59, n. 1, p.55-59, 2004.

CORNIA, G. A.; DEOTTI, L.; SASSI, M. Sources of food price volatility and child malnutrition in Niger and Malawi. **Food Policy**, v. 60, n. 1, p. 20-30, 2016.

COSTA, J. A.; SILVA, D. F. Distribuição espaço-temporal do Índice de anomalia de chuva para o Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 10, n. 4, p. 1002-1013, 2017.

COSTA, L. S. **Algoritmo para Contagem de Células do Tipo Fibroblastos NIH/3T3 em Câmara de Neubauer Utilizando Processamento Digital de Imagens**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Eletrônica e Computação) – Universidade Católica de Pelotas. 2018.

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

DE BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. **Bioresour Technol**, v.101, n. 1, p.1611–1627, 2010.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DERNER, R. B. **Efeitos de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados**. Tese (Doutorado em Ciências de Alimento) - Universidade Federal do Ceará, 2006.

EGBUIKWEM, P. N.; MIERZWA, J. C.; SAROJ, D. P. Assessment of suspended growth biological process for treatment and reuse of mixed wastewater for irrigation of edible crops under hydroponic conditions. **Agricultural Water Management**, v. 231, n. 1, p. 106034, 2020.

ELLIOTT, D.; JULIE, S. (Ed.). **Research in early childhood education for sustainability: International perspectives and provocations**. Routledge, 2014.

ELRAHMAN, S. H. A.; MOSTAFA, M. AM.; TAHA, T. A.; ELSHARAWY, M. AO.; EID, M. A. Effect of different amendments on soil chemical characteristics, grain yield and elemental content of wheat plants grown on salt affected soil irrigated with low quality water. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 57, n. 2, p. 175-182, 2012.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Interciência. 2011.

FAVARIM, J. L.; TEZOTTO, T.; RAGASSI, C. F. Uso racional de micronutrientes na cultura de milho. **Piracicaba: International Plant Nutrition Institute**, 2008.

FELTRIN, B. S. **Aplicação de amido na fabricação de papel: vantagens e variáveis da aplicação de amido na fabricação de papel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Universidade Presbiteriana Mackenzie. 2012

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características agrônomicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FONSECA, G. C.; CARNEIRO, M. A. C.; COSTA, A. R.; OLIVEIRA, G. C.; BALBINO, L. C. Atributos físicos, químicos e biológicos de Latossolo Vermelho distrófico de Cerrado sob duas rotações de cultura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 1, p. 22-30, 2007.

FRAGA, H.; COSTA, R.; PEREIRA, J. M. M.; CORREIA, C. Modeling Phenology, Water Status and Yield Components of Three Portuguese Grapevines Using the STICS Crop Model. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.66, p. 482-491, 2015.

FRANCISCO, S. A. **Recuperação de microalgas cultivadas em efluente de tratamento anaeróbico de esgoto por processo de coagulação-floculação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal do Espírito Santo. 2016.

FRESEWINKEL, M.; ROSELLO, R.; WILHELM, C.; KRUSE, O.; HANKAMER, B.; POSTEN, C. Integration in microalgal bioprocess development: Design of efficient, sustainable, and economic processes. **Engineering in Life Sciences**, v.14, n. 6, p. 560–573. 2014.

FURLANETO, F. P. B.; AYROZA, D. M. M. R. E AYROZA, L. M. S. Custo e rentabilidade da produção de tilápia (*Oreochromis sp.*) em tanque-rede no médio Paranapanema, estado de São Paulo, safra 2004/05. **Informações Econômicas**, v. 36, n. 3, p. 63-69, 2006.

GANJEGUNTE, G.; ULERY, A.; NIU, G.; WU, Y. Organic carbon, nutrient, and salt dynamics in saline soil and switchgrass (*Panicum virgatum L.*) irrigated with treated municipal wastewater. **Land Degradation & Development**, v.29, n.1, p. 80-90, 2018.

GATTA, A. T.; SAUERWEIN, A. C.; ZHURAVLEVA, A.; LEVINE, T. P.; MATTHEWS, S. Insights estruturais sobre um domínio do tipo StART no Lam4 e sua interação com ligantes de esterol. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 495, n. 3, p. 2270-2274, 2018.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; BALLESTEROS, M. Linking microalgae and cyanobacteria culture conditions and key-enzymes for carbohydrate accumulation. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1655-1661, 2012.

GRANADOS, M. R.; ACIEN, F. G.; GOMEZ, C.; FERNANDEZSEVILLA, J. M.; GRIMA, E. M. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. **Bioresource Technology**, v. 118, n. 1, p.102-110, 2012.

GRIMA, E. M.; BELARBI, E. H.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; MEDINA, R.; SHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7-8, p. 491 -515, 2003.

GUEDES, A. C.; AMARO, H. M.; MALCATA, F. X. Microalgae as sources of carotenoids. **Marine Drugs**, v. 9, n. 4, p. 625-644, 2011.

GUIMARÃES, J.; AMARAL, R.; SANTOS, M. F.; SANTOS, L. M. A. **Colheita, identificação e conservação de microalgas**. ACOI, Algoteca do Departamento de Botânica Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 88p., 2009.

HENDERSON, R.; PARSONS, S. A.; JEFFERSON, B. The impact of algal properties and pre-oxidation on solid – liquid separation of algae. **Water research**, v. 42, n. 8-9, p. 1827 - 1845, 2008.

HO, S. H.; LU, W. B.; CHANG, J. S. Photobioreactor strategies for improving the CO₂ fixation efficiency of indigenous *Scenedesmus obliquus* CNW-N: statistical optimization of CO₂ feeding, illumination, and operation mode. **Bioresource Technology**, v.105, n. 1, p.106-113, 2012.

HOFF, F.; SNELL, T. **Plankton culture manual**. Florida Aqua Farm, Inc. EUA, 2001. Horizonte: DESA/UFGM, 2017.

IGBINOSA E.O., L.C. OBI, M. TOM, A.I. OKOH. Detection of potential risk of wastewater effluents for transmission of antibiotic resistance from *Vibrio* species as a reservoir in a peri-urban community in South Africa Int. **J. Environ. Health Res.**, 21 (2011), pp. 402-414, 2011.

ILLMAN, A. M.; SCRAGG, A. H.; SHALES, S. W. "Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium." **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, n. 8, p. 631-635, 2000.

JADOSKI, S. O.; SAITO, L. R.; PRADO, C.; LOPES, E. C.; SALES, L. L. S. R. Características da lixiviação de nitrato em áreas de agricultura intensiva **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, v. 3, n. 1, p. 193-201, 2010.

JOHN, R.P.; ANISHA, G.S.; NAMPOOTHIRI, K.M.; PANDEY, A. Micro and macroalgal biomass: a renewable source for bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, 186–193, 2011.

JUNG, Y. L.; JEONGHEE, Y.; TAE, G. K.; DAEHYUN, W.; KYUNG, S. C. Two-stage biogas production by co-digesting molasses wastewater and sewage sludge. **Bioprocess and Biosystems Engineering volume**, v.37, n. 7, p. 2401–2413, 2014.

KAISER, H. F. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika**, v. 23, n. 3, p. 187-200, 1958.

KANG, S.; HAO, X.; DO, TS.; TONG, L. Improving agricultural water productivity to ensure food security in China under changing environment: From research to practice. **Agricultural Water Management**, v. 179, n. 1, p. 5-17, 2017.

KIM, S. K.; KANG, K. H. Medicinal effects of peptides from marine microalgae. **Advances in Food Nutrition Research**, v. 64, n. 1, p. 313-323, 2011.

KLIGERMAN, D. C.; BOUWER, E.J. Prospects for biodiesel production from algae-based wastewater treatment in Brazil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, n. 1, p. 834-1846, 2015.

KUMAR, M. S.; MIAO, Z. H.; WYATT, K. S. Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium. **Bioresource Technology**, v.101, n. 15, p. 6012-6018, 2010.

LARKUN, A. W. D.; ROSS, I. L.; KRUSE, O.; HANKAMER, B. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. Review. **Trends in Biotechnology**, v.30, n.4, p.198-205, 2012.

LEE, R. E. **Phycology**. Cambridge University Press: New York, 2008.

LEMOS, J. S. **Desenvolvimento de sistema de tratamento e reciclagem de meio de cultivo de microalgas para produção de biodiesel**. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos materiais) – Universidade Federal do Paraná, 2012.

LEVINE, A.D., ASANO, T. Recovering sustainable water from wastewater **Environmental Science and Technology**, v.38, n. 11, p. 201-208, 2004.

LI, Q; DU, W.; LIU, D. LI, Q; DU, W.; LIU, D. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 80, n. 1, p.749 – 756, 2008.

LIRA, R. A.; MARTINS, M. A; MACHADO, M. F.; CORRÊDO, L. P.; MATOS, A. T. As microalgas como alternativa à produção de biocombustíveis. **Revista Engenharia na Agricultura**, v. 20, n. 5, p. 389-403, 2012.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: princípios e aplicações**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006.

LUBELLO, C.; GORI, R.; NICESE, F.P.; FERRINI F. Municipal-treated wastewater reuse for plant nurseries irrigation. **Water Research**, v. 38, n. 12, p. 2939-2947, 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. Evaluación del estado nutricional de las plantas. Principios y aplicaciones. **Boletín de Promecafe**, v. 56, n. 16, 1992.

MATA, T. M.; CAETANO, N. S. Y.; MARTINS, A. A. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n.1, p. 217-232, 2010.

MENDONÇA, S. R. **Sistemas de Lagunas de Stabilización: como utilizar águas residuales tratadas em sistemas de regadío**. Santa Fé de Bogotá: McGraw – Hill Interamericana, 2000.

MEZZOMO, N.; SAGGIORATO, A.G.; SIEBERT, R.; TATSCH, P.O.; LAGO, M.C.; **Microbiology Biotechnology**, v. 80, n. 5, p. 749–756, 2008.

MILLER, G.W. Miller Integrated concepts in water reuse: managing global water needs. **Desalination**, v.187, n. 1, p. 65-75, 2006.

MONTEIRO, J. V.; NORÕES, A. K. M.; ARAÚJO, R. C. P. Análise da Preferência do Pescador Artesanal do Município de Pentecoste (CE) por Programas de Peixamento. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 3, p. 483-500, 2018.

MORGAN, K. T.; WHEATON, T. A.; PARSONS, L. R.; CASTLE, W. S. Effects of Reclaimend Municipal Wast Water on Horticultural Characteristics, Fruit Quality, and Soil and Leaf Mineral Concentration of Citrus. **HortScience**, v. 43, n. 1, p. 459-464, 2008.

MORIOKA, L. R. I.; MATOS, A. P.; OLIVO, G.; SANT'ANNA, E. S. Flocculação de *Chlorella sp.* produzida em concentrado de dessalinização e estudo de método de extração de lipídeos intracelulares. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 44-49, 2014.

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; BUYER, J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different manure loading rates. **Journal of Applied Phycology**, v.20, n.6, p. 1079–1085, 2008.

NORTON-BRANDÃO, D.; SCHERRENBERG, S. M.; VAN LIER, J. B. Reclamation of used urban waters for irrigation purposes—a review of treatment technologies. **Journal of environmental management**, v. 122, n. 1, p. 85-98, 2013.

OLIVEIRA, H. T. **Utilização de vinhaça como meio de cultura para *Chlorella vulgaris* (CCAP/211/11b)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Carlos .1988

OLIVEIRA, O. S. B. C.; CAETANO, N. S. **Optimização da produtividade lipídica da microalga *Arthrospira platensis* como matéria-prima para biocombustíveis**. Dissertação (Mestrado em Bioenergia) – Universidade Nova de Lisboa, 2009.

OLIVEIRA, E. G.; SANTOS, F. J. S.; PEREIRA, A. M. L.; LIMA, C. B. Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria. **Circular Técnica**, v. 45, n. 12, p.1-12, 2007.

ÓRPEZ, R.; MARTÍNEZ, M. E.; HODAIFA, G.; EL YOUSFI, F.; JBARI, N.; SÁNCHEZ, S. Growth of the microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. **Desalination**, v.246, n. 1, p. 625-630, 2009.

OSWALD, W. J. Microalgae and waste-water treatment. In: BOROWITZKA, M.A.; BOROWITZKA, L.J. (Eds). *Micro-algal biotechnology*. Cambridge: Cambridge University, p.305-328, 1988.

PANIAGUA-MICHEL, J. Microalgal Nutraceuticals. **Handbook of Marine Microalgae**. p. 255–267, 2015.

PEDRERO, F.; ALARCÓN, J. J. Effects of treated wastewater irrigation on lemon trees. **Desalination**, v. 246, n. 1, p. 631-639, 2009.

PEDRERO, F.; CAMPOSEO, S.; PACE, B.; CEFOLA, M.; VIVALDI, G.A. Use of reclaimed wastewater on fruit quality of nectarine in Southern Italy. **Agric. Water Manage**, v.203, n. 1, p. 186–192, 2018.

PEDRERO, F.; KALAVROUZOTIS, I.; ALARCÓN, J. J.; KOUKOULAKIS, P.; ASANO, T. Use of treated municipal wastewater irrigated agriculture: review of some practices in Spain and Greece. **Agricultural Water Management**, v. 97, n. 9, p.1233–1241, 2010.

PEQUENO, M. A. G.; SOUZA, A. G. **Avaliação do Potencial Produtivo de Óleos Obtidos a Partir de Microalgas por Cromatografia Gasosa**. 2010. 66f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em química) – Universidade Federal de João Pessoa, Paraíba, 2010.

PEREIRA, B.F.F., Z.L. HE, SILVA, M.S., HERPIN, U., NOGUEIRA, S.F., C.R. MONTES, A.J. Melfi Reclaimed wastewater: impact on soil-plant system under tropical conditions. **Journal of Hazardous materials**, v.192, n. 1, p. 54-61, 2011.

PESSATTI, M. L. Aproveitamento dos subprodutos do pescado. Relatório Final de Ações Prioritárias ao Desenvolvimento da Pesca e Aqüicultura no Sul do Brasil, **Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**, Universidade do Vale do Itajaí, MA/SARC, n. 003/2000. 2001.

PESCOD, M.B. Wastewater treatment and use in agriculture. FAO photosystem II dependent and independent pathways differ in their requirement for starch metabolism. **Plant Physiology**, v.151, n. 1, p. 631–640, 2009.

PIÑELA, A. K. R. **Manual para el cultivo de microalgas**. Memória Técnica de um trabalho profissional, Universidade Autónoma de baja California Sur, La Paz, 2002.

PINHO, E. A. S.; FERREIRA, L. F. R.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P.; TORRES, N. H. Tratamento de esgoto sanitário contendo micropoluentes no Brasil: revisão. **Diálogos**, v. 7, n. 2, p.46 - 63, 2017.

PIRES, J. C. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; MARTINS, F. G.; SIMÕES, M. Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture. **Environmental Science Pollution Research**, v.20, n.8, p. 5096- 5105, 2013.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 17-25, 2011.

POLLICE, A.; GIORDANO, C.; LAERA, G.; SATURNO, D.; MININNI, G. Physical characteristics of the sludge in a complete retention membrane bioreactor. **Water Research**, v. 41, n. 8, p. 1832-1840, 2007.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.65, n. 6, p.635-648, 2004.

QADIR, M.; WICHELNS, D.; RASCHID-SALLY, L.; MCCORNICK, P. G.; DRECHSEL, P.; BAHRI, A.; MINHAS, P. S. The challenges of wastewater irrigation in developing countries. **Agric. Water Manage**, v.97, n. 4, p.561–568, 2010.

QIAN, Y. L.; MECHAM, B. Long-Term Effects of Recycled Wastewater Irrigation on Soil Chemical Properties on Golf Course Fairways. **Agronomy Journal**, v. 97, n. 3, p.717–721, 2005.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2 ed, 2013.

ROCHA, J.; GARCIA, J. e HENRIQUES, M. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 237-242, 2003.

RODRIGUES, J. B. R.; FILHO, P. B. Eficiência da microalga *Chlorella minutissima* no tratamento de resíduos de suinocultura enriquecido com uréia. **Revista Biotemas**, v.17, n.2, p. 7 - 26, 2004.

RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L. G.; STEPHENSON, T. Growth and nutriente removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 58-64, 2010.

RUSAN, M. J. M.; HINNAWI, S.; RUSAN, L. Long Term Effect of Wastewater Irrigation of Forage Crops on Soil and Plant Quality Parameters, **Desalination**, v. 215, n. 1, p. 143-152, 2007.

RUSSO, David Alexandre Martins Tavares. **Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de fotoperíodo e temperatura.** (Mestrado em Ciências e Tecnologia) - Universidade Nova de Lisboa. 2011.

SAVEGNAGO, R. P.; CAETANO, S. L.; RAMOS, S. B.; NASCIMENTO, G. B.; SCHMIDT, G. S.; LEDUR, M. C.; MUNARI, D. P. Estimates of genetic parameters, and cluster and principal components analyses of breeding values related to egg production traits in a White Leghorn population. **Poultry Science**, v. 90, n. 10, p. 2174-2188, 2011.

SCHOLZ, M.; HOSHINO, T.; JOHNSON, D.; RILEY, M. R.; CUELLO J. Flocculation of wall-deficient cells of *Chlamydomonas reinhardtii* mutant cw15 by calcium and methanol. **Biomass Bioenerg.**, v. 35, n. 12, p. 4835-40, 2011.

SEBASTIEN, N. Y.; KLEIN, V. L. M. Efeito do meio Erd Schreiber no cultivo das microalgas *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* e *Isochrysis galbana*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n.2, p. 149-152, 2006.

SHEI, M. R. P.; BARRETO, J. S.; BONFANTE, T. M.; BASTOS, G. C. C. Cultivo da microalga marinha *Chaetoceros calcitrans* (Bacillariophyceae) utilizando diferentes tipos de água marinha artificial. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 563 - 569, 2008.

ŞIRIN, S.; CLAVERO, E.; SALVADO, J. Potential pre-concentration methods for *Nannochloropsis gaditana* and a comparative study of preconcentrated sample properties. **Bioresource Technology**, v. 132, n. 1, p. 293-304, 2013.

SOEDER, D. J. Laboratory drying procedures and the permeability of tight sandstone core. **SPE Formation Evaluation**, v. 1, n. 1, p. 16-22, 1986.

TAVARES, L.H.S. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Chlorophyta) em laboratório à base de esterco suíno. **Scientific journals**, v.21, n.1, p 7-16, 2008.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S. J. **Análise de solo, planta e outros materiais.** Porto Alegre: Departamento de solos da UFRGS. Circular, p.9, 1995.

TOMASELLI, L. The Microalgal Cell. In: RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture.** Oxford: Blackwell Publishing, 2 ed, p. 3-19, 2013.

- TRAN, Q. K.; SCHWABE, K.A.; JASSBY, D. Wastewater reuse for agriculture: development of a regional water reuse decision-support model (RWRM) for cost-effective irrigation sources. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 17, p. 9390–9399, 2016.
- VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MEESCHAERT, B.; MUYLAERT, K. Flocculation of microalgae using cationic starch. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 4, p. 525-530, 2010.
- VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; FRAEYE, I.; MEESCHAERT, B.; MUYLAERT, K. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications. **Bioresource Technology**, v. 105, n. 1, p. 114 - 119, 2012.
- VANHAM, D., HOEKSTRA, A. Y., WADA, Y., BOURAOUI, F., DE ROO, A., MEKONNEN, M. M.; KUMMU, M. Physical water scarcity metrics for monitoring progress towards SDG target 6.4: An evaluation of indicator 6.4. 2 “Level of water stress”. **Science of the total environment**, v. 613, n. 1, p. 218-232, 2018.
- VICENTE, I. S. T.; FONSECA-ALVES, C. E. Impact of Introduced Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on Non-native Aquatic Ecosystems. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 3, p. 121-126, 2013.
- VICENTE, I. S. T.; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES, C.E. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392-398, 2014.
- VIEIRA, A. S. **Eficiência de separação da biomassa de microalgas por floculação e o efeito desta metodologia sobre a composição de ácidos graxos**. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) -Universidade Federal de Santa Catarina. 2014.
- VON SPERLING, M. **Princípio do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. *Chlorella vulgaris* (CCAP/211/11b)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de São Carlos. 2005.
- WANG, Y.; GUO, W.; YEN, H. W.; HO, S. H.; LO, Y. C.; CHENG, C. L.; REN, N. CHANG, J. S. Cultivation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. **Bioresour Technol**, v.198. n. 1, p. 619-625, 2015.
- YANG, J.; LIU, K.; WANG, Z.; DU, W.; ZHANG, J. Water saving and highyielding irrigation for lowland rice by controlling limiting values of soil water potential. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, n. 10, p. 1445-1454, 2007.
- YI, L. L.; JIAO, W. T.; CHEN, X.; CHEN, W. P. An over view of reclaimed water reuse in China. **Journal of Environmental Sciences**, v.23, p.1585–1593, 2011.
- ZHAO, L.; DENG, J.; SUN, P.; YIJI, J. L.; NAKADA, N.; QIAO, Z. Nanomaterials for treating emerging contaminants in water by adsorption and photocatalysis: Systematic review and bibliometric analysis. **The Science of the Total Environment**, v. 627, n. 3, p. 1253–1263, 2018.

ZHENG, H.; GAO, Z.; YIN, J.; TANG, X., JI, X.; HUANG, H. Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ -glutamic acid). **Bioresource Technology**, v. 112, n. 0, p. 212-220, 2012.

ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, n. 1, p. 1376–1384. 2015.

APÊNDICE A - PATENTE

SISTEMA HÍBRIDO (PISCINA + FOTOBIOREATOR DE PLACA PLANA) DE CULTIVO DE MICROALGAS INTEGRADO COM O PROCESSO DE SEPARAÇÃO USANDO FILTRO ROTATIVO À VÁCUO COM MEMBRANAS

RESUMO

A presente invenção consiste na obtenção de pasta de microalgas e/ou microalgas secas obtidas por meio de filtro rotativo a vácuo usando membrana, com malhas na faixa de 0.10μ a 0.22μ , para separar diferentes tipos de pastas de microalgas. O sistema proposto é adequado para cultivar microalgas de forma semicontínua, em pequenas escalas de vazões, de forma econômica, sendo adequado para produzir diferentes tipos de microalgas e/ou seus derivados de valor agregado, usando sistema de cultivo fototrófico ou heterótrofico. Essa tecnologia se mostra apropriada para a região semiárida do Nordeste pela sua alta insolação e elevada quantidade de água salobra nos seus açudes em decorrência da elevada taxa de evaporação. Tendo em vista esses organismos o cultivo de microalgas é uma fonte renovável de matéria-prima utilizada para obtenção de diferentes tipos de produtos, tais como: fármacos, princípios ativos para uso cosmético, medicinal, nutracêuticos ou para fins de alimentação humana ou de animais, polímeros, bicompostíveis, notadamente biodiesel, podendo ainda ser utilizadas para a remoção da carga orgânica de efluentes das indústrias de alimentos e pescados, deixando neste caso, água de reuso como subproduto.

APÊNDICE B - REINVINDICAÇÕES

1. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o processo de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”, caracterizado por, ser um novo sistema híbrido para cultivo fototrófico ou heterotrófico de microalgas, utilizando piscinas do tipo raceway + fotobioreator de placa plana, integrado com o processo de separação de microalgas usando filtro rotativo a vácuo com membranas, floculação química ou eletrofloculação como sistemas de separação alternativos.

2. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o processo de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”. caracterizado por, ser um sistema híbrido e integrado com a separação é preferencialmente adequado para utilizar o CO₂ purificado proveniente de sistemas de fermentação anaeróbica que utilizam efluentes da indústria de alimentos ou de pescado para a geração de biogás, na forma de uma biorefinaria de segunda geração. Esta integração permite reduzir os custos de nutrientes, devido a utilização e o reciclo dos efluentes que foram removidas as microalgas para serem reutilizados após receberem injeção de novos cultivos oriundos dos reatores de cultivo de inoculo. Alternativamente o CO₂ pode ser gerado a partir da fermentação alcoólica, utilizando o efluente do processo desta fermentação (vinhaça) para o cultivo de microalgas em face do elevado teor de nutrientes presentes nestes efluentes.

3. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o processo de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”, caracterizado por, ser um o sistema híbrido de cultivo e integrado com a separação das microalgas é adequado para operar de forma semicontínua, isto é, por ciclos de cultivo e produção, como um sistema descentralizado em pequena escala, tendo em conta o que estas condições conferem potencial de controle, sustentabilidade e economicidade.

4. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o processo de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”, caracterizado por, ser um sistema dotado reciclo de nutrientes, de iluminação LED nos fotobioreatores, controle de temperatura e de concentração de nutrientes, condições estas requeridas para elevar o rendimento fotossintético, o que confere a este sistema economicidade

e grande potencial de redução de impactos ambientais, além da produção concomitante de água para reuso.

5. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o processo de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”, caracterizado por, ser um sistema que produz microalgas e/ou produtos de valor agregado tais como nutracêuticos, fármacos, princípios ativos, suplementos alimentares notadamente proteínas ou peptídeos funcionais, PUFAS (ácidos graxos poli-insaturados), anti-oxidantes, vitaminas, aminoácidos, são produzidos através da utilização dos principais componentes das microalgas como carboidratos, lipídeos, proteínas ou princípios ativos presentes nas microalgas cultivadas dentre outros.

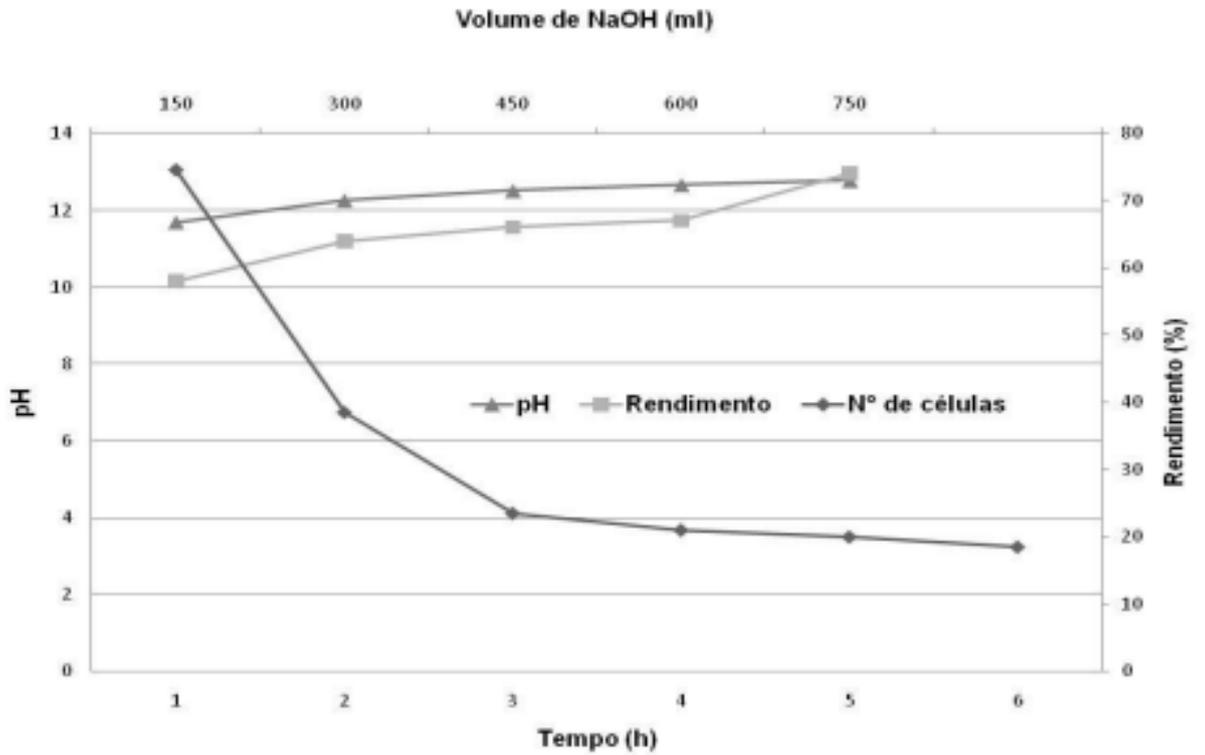
6. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o proceso de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas”. caracterizado por, ser um sistema híbrido semi- contínuo, integrado com os sistemas de separação, no qual os nutrientes são reciclados e utilizados no sistema híbrido original, que apresenta as vantagens do uso de uma piscina raceway de baixo custo com rendimento fotossintético que é aumentado pelo uso de fotobioreator de placa plana, em virtude do uso eficiente de iluminação LED lateral, além da iluminação solar difusa. A configuração utilizada na construção do sistema híbrido permite utilizar espaço vertical dentro da área de cultivo da piscina raceway, fator este estratégico na redução dos investimentos das piscinas quando é exigido grandes áreas para instalação de piscinas. Essa configuração permite ainda uma redução das contaminações quando se utiliza somente a piscacina do tipo raceway.

7. “Sistema Híbrido (Piscina + Fotobioreator de placa plana) de cultivo de microalgas integrado com o proceso de separação usando filtro rotativo a vácuo com membranas” caracterizado por, ser um sistema híbrido semi- contínuo, integrado com os sistemas de separação, no qual os nutrientes são reciclados e utilizados no sistema híbrido original, que apresenta as vantagens do uso de uma piscina raceway de baixo custo com rendimento fotossintético que é aumentado pelo uso de fotobioreator de placa plana. Dentro deste contexto reivindica-se o uso de um eletrofloculador de placa plana cuja dimensão vertical seja de até 30 % superior que a dimensão horizontal, tendo em vista que essa configuração facilita a separação e a coleta da pasta de microalgas. Neste eletrofloculador o catodo (cuba) é de aço inoxidável e o anodo é de alumínio. Com base nessa configuração foi calculado o rendimento da separação

de microalgas, usando a equação seguinte, $\eta = (C_i - C_f) \times 100/C_f = 97\%$, o qual demonstra inequivocamente de um resultado surpreendente.

ANEXOS A – APARELHO DE SEPARAÇÃO DA BIOMASSA ALGAL

ANEXO B – GRAFICO DO RENDIMENTO, pH E TEMPO EM RELAÇÃO A APLICAÇÃO DE HIDROXIDO DE SÓDIO (NaOH)



ANEXO C – IMAGEM DO APARELHO DE ELETROFLOCAÇÃO SEPARANDO A BIOMASSA ALGAL

