



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA  
CAMPUS DE JI-PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL**



**RAFAELA SEARA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *SCENEDESMUS* SP E *CHLORELLA* SP EM  
EFLUENTE DOMÉSTICO TRATADO**

Ji-Paraná

2016

**RAFAELA SEARA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *SCENEDESMUS* SP E *CHLORELLA* SP EM  
EFLUENTE DOMÉSTICO TRATADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Engenharia Ambiental, Fundação Universidade Federal de Rondônia, *Campus* de Ji-Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental.

Orientadora: Elisabete Lourdes do Nascimento

Ji-Paraná

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Biblioteca Setorial – UNIR/Campus de Ji-Paraná

S237a

2016

Santos, Rafaela Seara

Avaliação do crescimento de *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp em efluente doméstico tratado / Rafaela Seara Santos; orientadora, Elisabete Lourdes do Nascimento. -- Ji-Paraná, 2016

61 f. : 30 cm

Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Ambiental. – Universidade Federal de Rondônia, 2016

Inclui referências

1. Efluente. 2. Microalga. I. Nascimento, Elisabete Lourdes do. II. Universidade Federal de Rondônia. III. Título.

CDU 628



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA  
CAMPUS DE JI-PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AMBIENTAL



**TÍTULO:** AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *SCENEDESMUS* SP E *CHLORELLA* SP  
EM EFLUENTE DOMÉSTICO TRATADO

**AUTORA:** RAFAELA SEARA SANTOS

O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi defendido como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental e aprovado pelo Departamento de Engenharia Ambiental, da Fundação Universidade Federal de Rondônia, *Campus* de Ji-Paraná, no dia 05 de dezembro de 2016.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Andreza Pereira Mendonça (Membro)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia

---

Prof<sup>a</sup>. Msc. Alice Sperandio Porto (Membro)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisabete Lourdes do Nascimento (Orientadora)  
Fundação Universidade Federal de Rondônia

Ji-Paraná, 05 de dezembro de 2016.

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico essa monografia ao Mestre dos Mestres, Jesus, por todo o amor por minha vida, por ser uma fonte inesgotável de sabedoria e por ser o meu sustento eterno.*

## AGRADECIMENTOS

Ao longo de nossas vidas encontramos pessoas que nos modificam e nos fazem crescer sempre um pouco mais, pois todos nós sempre temos algo a aprender e a ensinar. Por isso quero através dessas sinceras palavras agradecer àqueles que fizeram parte da minha vida ao longo dessa jornada acadêmica. Então, agradeço:

- Primeiramente ao Mestre dos Mestres, Jesus, por ser o meu alicerce. Sem Ele nada disso seria possível! Obrigada Deus por toda a sua sabedoria e conhecimento, por me ensinar a ter fé e me tornar uma pessoa melhor a cada dia;
- Aos meus pais, Gilvan e Ivana, por todo o apoio emocional, todo o cuidado, paciência e zelo concedidos para mim. Obrigada mãe, por ser uma comigo, por ser a pessoa que me ensinou a ler e a escrever. Minha conquista hoje não seria possível sem você! Obrigada pai, por todo o zelo e cuidado, por todo apoio financeiro, por acreditar em meu sonho, por ser carinhoso e me amar tanto, por ser quem me impulsiona a voar alto em meus sonhos! Amo muito vocês;
- Ao meu irmão, Giovanni Seara, pelas inúmeras caronas concedidas, além de me mostrar o mundo através do seu olhar detalhista e gentil. Parabéns pelo homem que se tornou! E a minha irmã do coração, Patrícia Moraes, pelas risadas que me fez dar em meio às tensões com a faculdade; por me ajudar a relaxar e me divertir quando saíamos para passear;
- À minha avó Arlete e bisavó Ana, por todo o apoio, orações e carinho dedicados a mim. À Raquel Ferreira, minha prima, obrigada por ter me ajudado nas minhas análises e por sua companhia no laboratório. Também agradeço aos demais familiares que contribuíram ao longo dessa jornada;
- Ao meu noivo, Rodrigo Barros, por todo o amor, paciência e carinho que tem me dado; por me animar, quando pensei em desistir; por me ajudar em minhas análises até nos fins de semana e feriados; por me fazer enxergar a vida de forma mais

otimista. Obrigada por fazer parte da minha história e torná-la mais bonita! Você é muito importante para mim, meu amor! Obrigada por tudo;

- À professora Elisabete Lourdes do Nascimento, por todo o apoio, paciência e acreditar em mim e no meu potencial. Obrigada por toda a ajuda e orientação; por ser tão capaz e inteligente; por me ensinar, através de seu exemplo, a ser mais compreensiva, detalhista, otimista e a sempre tratar as pessoas com respeito, gentileza e amor;
- Aos técnicos em laboratório, Aurelino Helwecyo e Gleiciane Barros, por suas inúmeras ajudas, apoio e compreensão; pelos momentos de descontração; pelos lanches compartilhados; por terem sido ótimos profissionais e amigos ao longo da minha jornada acadêmica;
- Aos estagiários do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, *Campus* de Ji-Paraná, (Amanda Perez, Lucas de Souza, Renata Bartolini, Rodrigo Félix, Sedy Mayra e ao Yuri Bergamo) por todo o apoio, por me servirem tão bem;
- Aos meus amigos e colegas da faculdade, Rosângela Gomes, Samara de Paula, Daniela Ferraz, Carla Fortunato, Cláudia Corrêa, Amanda Sobrinho e Caryne Ferreira. E em especial à Geniane Trindade e Fernanda Furquim, muitíssimo obrigada por serem sempre tão dispostas a me ajudar, por toda paciência ao me ensinar, pela simplicidade e disposição de me receberem em suas casas sempre que precisei. Também agradeço ao Thiago Alves pelos inúmeros momentos de descontração no laboratório, pelos doces e biscoitos compartilhados que sempre alegravam meu dia. Desejo muito sucesso e paz a todos vocês;
- Aos professores Dra. Sandra M. F. O. Azevedo, do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias (UFRJ), professor Dr. Wanderley R. Bastos (UNIR, *Campus* de Porto Velho), professora Dra. Andreza Mendonça (IFRO, *Campus* de Ji-Paraná), e a professora Dra. Beatriz Gomes Machado (UNIR, *Campus* de Ji-Paraná) por todo apoio logístico ao desenvolvimento da presente pesquisa, e ao funcionário do IFRO, *Campus* de Ji-Paraná, Itamar Machado;
- Aos professores do Departamento de Engenharia Ambiental, da UNIR, *Campus* de Ji-Paraná, por todo o apoio e conhecimento partilhado ao longo desses anos de curso;
- Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica– PIBIC/UNIR/CNPQ pela bolsa de estudo concedida.

*“Não existe saber mais ou saber menos: há saberes diferentes.”*

*Paulo Freire*



## RESUMO

Atualmente, o número de pesquisas sobre as microalgas tem crescido devido ao excelente potencial biotecnológico de sua biomassa. Entre os fatores que mais encarecem o cultivo deste microrganismos é a adição de nutrientes às culturas. Uma opção economicamente viável que atualmente tem sido discutida é o aproveitamento de efluentes domésticos como meio de cultura alternativo. A presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial do efluente doméstico tratado no crescimento das espécies *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp, bem como o potencial para remoção de nutrientes do efluente. Para tanto, foi realizado um experimento laboratorial com cada espécie de microalgas. O experimento consistiu em diluir o efluente doméstico tratado com água destilada à concentrações de 25%, 50% e 100%. O controle foi constituído por meio sintético ASM-1. O experimento teve a duração de 15 dias, sendo retiradas amostras a cada três dias para determinação das variáveis em estudo. Os nutrientes dissolvidos amônia e ortofosfato foram determinados pelo método espectrofotométrico. A biomassa foi obtida através de gravimetria. Em todos os tratamento houve aumento de biomassa, sendo os maiores valores obtidos no T100%. Nos dois experimentos, ao comparar o T0 ao T15, houve a redução dos teores de amônia e fósforo dissolvido. Para *Scenedesmus* sp, a maior redução ocorreu no Tratamento 25% (81,3%) para amônia e 44% para o fósforo no Tratamento 25%. Para *Chlorella* sp, a maior remoção de amônia (70%) também ocorreu no Tratamento 25%. Já para o fósforo a redução foi de 60% no Tratamento 25%. Desta forma, os resultados demonstraram que o efluente doméstico tratado foi eficiente para o crescimento das cepas em estudo, contribuindo para ganho de biomassa, bem como para a redução dos nutrientes dissolvidos no efluente, atingindo valores próximos aos preconizados pela legislação vigente no que se refere ao lançamento de efluente no corpo hídrico receptor.

**Palavras-chave:** Microalga, efluente doméstico e remoção de nutrientes.

## ABSTRACT

Currently, the number of research about microalgae has grown due to the excellent biotechnological potential of their biomass. Among the factors that make the cultivation of these microorganisms more expensive is the addition of nutrients to the growing substrate. An economically viable option that has now been discussed is the use of domestic effluents as an alternative growing substrate. The present research had as objective to evaluate the potential of treated domestic effluent in the growth of the *Scenedesmus* sp and *Chlorella* sp species, as well as the potential for nutrient removal of the effluent. For that, a laboratory experiment was carried out with each species of microalgae. The experiment consisted in diluting the treated domestic effluent with distilled water at 25%, 50% and 100% concentrations. The control consisted of ASM-1 synthetic substrate. The experiment lasted 15 days, and samples were taken every three days to determine the variables under study. The ammonia and orthophosphate dissolved nutrients were determined by the spectrophotometric method. The biomass was obtained by gravimetry. In all treatments there was increase of biomass, and the highest values were obtained in T100%. In the two experiments, when comparing the T0 to the T15, the ammonia and phosphorus dissolved levels were reduced. For *Scenedesmus* sp, the higher reduction occurred in the Treatment 25% (81.3%) for ammonia, and 44% for phosphorus in Treatment 25%. For *Chlorella* sp, the highest removal of ammonia (70%) also occurred in Treatment 25%, and for the phosphorus the reduction was 60%, in the Treatment 25%. Thus, the results showed that the treated domestic effluent was efficient for the growth of the studied strains, contributing to biomass gain, as well as to the reduction of nutrients dissolved in the effluent, reaching values close to those recommended by the current legislation that is relative to the discharge of effluent into the receiving water body.

**Keywords:** Microalgae, domestic effluent, nutrient removal.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Scenedesmus</i> sp.....	22
Figura 2 - <i>Chlorella</i> sp.....	24
Figura 3 - Sistema de cultivo aberto.....	24
Figura 4 - Sistema de cultivo fechado (fotobiorreator).....	25
Figura 5 - Adição de meio de cultura ASM-1 com intuito de multiplicação da cepa. Fevereiro de 2016.....	28
Figura 6 - Coleta de esgoto na SAAE, Cacoal, Rondônia. Setembro de 2016.....	29
Figura 7 - Esquema da montagem dos experimentos. ....	30
Figura 8 - Montagem do experimento. Maio de 2016. ....	30
Figura 9- Tempo 0 (a) e Tempo 15 (b), experimento com <i>Scenedesmus</i> sp. Maio de 2016.....	31
Figura 10- Tempo 0 (a) e Tempo 15 (b), experimento com <i>Chlorella</i> sp. Outubro de 2016. ....	31
Figura 11- Biomassa retida no microfiltro de fibra de vidro (Macherey-Nagel GF-3 diâmetro de 47 mm).....	32
Figura 12 - Placas Petri com Meio ASM-1 solidificado com amostras do efluente para tentativa de isolamento de cepa. Agosto de 2015.....	33
Figura 13 - Isolamento de microalgas em andamento, 2016. ....	34
Figura 14 - Crescimento da <i>Scenedesmus</i> sp.....	34
Figura 15 - Crescimento da <i>Chlorella</i> sp.....	34
Figura 16 – Valores médios da biomassa seca produzida por <i>Scenedesmus</i> sp.....	38
Figura 17 – Valores médios da biomassa seca produzida por <i>Chlorella</i> sp. ....	38
Figura 18 - Valores de pH no experimento com <i>Scenedesmus</i> sp. ....	40
Figura 19 - Valores de pH no experimento com <i>Chlorella</i> sp.....	40
Figura 20 - Concentração de Amônia no experimento com <i>Scenedesmus</i> sp.....	43

<b>Figura 21- Concentração de Amônia no experimento com <i>Chlorella</i> sp.....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 22 - Concentrações de fósforo dissolvido no experimento com <i>Scenedesmus</i> sp.....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 23 - Concentrações de fósforo dissolvido no experimento com <i>Chlorella</i> sp. ....</b>	<b>47</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Usos potenciais da biomassa. ....	19
Tabela 2 – Quadro comparativo de espécies de microalgas, produção de biomassa e lipídio.....	21
Tabela 3 - Principais vantagens e desvantagens do sistema de cultivo a céu aberto.....	25
Tabela 4 - Principais vantagens e desvantagens do sistema fechado (fotobiorreator).....	26
Tabela 5 - Características físicas do esgoto coletado em agosto de 2015 no Sistema de Tratamento de Cacoal.....	27
Tabela 6 - Características químicas do esgoto coletado em agosto de 2015 no Sistema de Tratamento de Cacoal.....	27
Tabela 7 - Características físico-químicas da Lagoa Facultativa 5 (maio/2016). ....	29
Tabela 8 - Características físico-químicas da Lagoa Facultativa 5, coleta do mês de setembro/2016.....	29
Tabela 9 – Categorias de estado trófico baseadas na qualidade da água do sistema.....	50

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>1 OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>18</b>
<b>1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>18</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1 MICROALGAS E A BIORREMEDIAÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>2.2 EUTROFIZAÇÃO ARTIFICIAL</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3 SELEÇÃO DE CEPAS DE MICROALGAS</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3.1 <i>Scenedesmus</i> sp</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3.2 <i>Chlorella</i> sp</b> .....	<b>23</b>
<b>2.4 SISTEMAS DE CULTIVO</b> .....	<b>24</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1 SELEÇÃO DA LAGOA E ISOLAMENTO DAS MICROALGAS</b> .....	<b>26</b>
<b>3.2 MONTAGEM DO EXPERIMENTO</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS</b> .....	<b>31</b>
<b>3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>33</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1 ISOLAMENTO DA MICROALGA</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2 ANÁLISE DO CRESCIMENTO</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2.1 Absorbância</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2.2 Biomassa</b> .....	<b>38</b>
<b>4.3 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)</b> .....	<b>39</b>

<b>4.4 ANÁLISE DE NUTRIENTES</b> .....	<b>42</b>
<b>4.4.1 Amônia (N-NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)</b> .....	<b>42</b>
<b>4.4.2 Fósforo dissolvido (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>)</b> .....	<b>46</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>51</b>
<b>RECOMENDAÇÕES</b> .....	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>53</b>

## INTRODUÇÃO

O mundo, em meio à problemática de caráter ambiental, sofre com a exploração intensa de seus recursos naturais, tendo em vista a satisfação de interesses econômicos e, ainda, aos índices de consumo da sociedade. Barcellos et al. (2009), destacam que as transformações estruturais pelas quais passou a indústria brasileira, desde o final da década de 70, quando o setor de bens intermediários passou a ser dominante, potencializaram a degradação ambiental, o uso de recursos naturais e o consumo de energia. Como consequência, esse aumento gradativo da demanda por recursos naturais tem gerado, cada vez mais, uma grande quantidade de resíduos, tornando esses recursos muitas vezes escassos pelo fato de frequentemente encontrarem-se poluídos e deteriorados.

Conforme Schmitz et al. (2012), diante desse cenário, busca-se estabelecer uma ligação entre desenvolvimento econômico e proteção ambiental, desenvolvendo-se novos produtos, novas alternativas de processos e técnicas eficientes no combate e mitigação da poluição. Sendo assim, os processos biológicos surgem como uma possibilidade interessante no combate à poluição e na geração de novos produtos, visto que esses processos utilizam o metabolismo microbiano para degradar e remover poluentes, gerando produtos menos nocivos ao meio ambiente. Para isso, existe uma gama de microrganismos dominantes, como bactérias, fungos, algas e microalgas (SCHMITZ et al., 2012).

A biomassa das microalgas possui um excelente potencial biotecnológico, devido às inúmeras aplicações nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e químicas, além da obtenção de biocombustíveis. Por isso, a quantidade de pesquisas e estudos sobre as microalgas tem crescido nos últimos anos.

Para a produção de biomassa de microalgas a baixo custo, é crucial o aprimoramento de um sistema de menor custo. Quanto a isso, seria obtida uma consequente redução de custos em todas as áreas (uso de água, nutrientes, energia, infraestrutura, entre outros). Entre os fatores que mais encarecem o cultivo de microalgas é a adição de nutrientes às culturas. Uma opção economicamente viável que atualmente tem sido discutida é o aproveitamento de



efluentes industriais ou domésticos como meio de cultura alternativo (fonte de nutrientes) para o cultivo de microalgas (AZEREDO, 2012; CARDOSO *et al*, 2011; NEVES *et al*, 2013; OLIVEIRA, 2013; RÊGO *et al*. 2011; SCHMITZ *et al*, 2012). Há de se considerar que os efluentes domésticos têm uma elevada carga de nutrientes, e os meios de cultura sintéticos possuem custos elevados. Assim, segundo Oliveira (2013), os custos da produção de microalgas seriam reduzidos. Deste modo, Neves *et al*. (2013), afirmam que deve-se explorar o cultivo de espécies de microalgas adaptadas aos efluentes, com o intuito de obter uma maior produtividade e resistência à contaminação por outros microrganismos.

Além da produção de biomassa, as microalgas oferecem uma solução eficaz para tratamentos de efluentes sanitários (industrial + doméstico), devido a sua capacidade absorverem nutrientes (nitrogênio e fósforo) e também a sua capacidade de remoção de metais pesados (ABREU, 2013). Sendo assim, as microalgas tem sido tema de algumas pesquisas (ABREU, 2013; ALVES, 2011; ANSILAGO *et al.*, 2016; BONINI, 2012; DELABARY, 2012; GALINDRO, 2012; LOPES *et al.*, 2016; MARTINS, 2014; MELO 2014; MICHELON, 2015; PAIVA *et al.*, 2016; PIMENTA, 2012; SILVA, 2006; SILVA, 2007; SILVA, 2013; SILVA, N. 2014; TAHER, 2013; TANGO, 2015) devido a sua capacidade de biorremediação (eliminar componentes poluentes através de seu metabolismo).

Desta forma, o presente trabalho apresenta grande relevância em termos econômicos e ambientais, pois o cultivo de microalgas usando efluente doméstico tem sido uma ótima opção para redução dos custos na produção de biomassa e remoção de nutrientes do efluente a partir de microalgas, bem como uma alternativa na redução da carga inorgânica no tratamento desses efluentes.

## **1 OBJETIVOS**

### **1.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o crescimento de *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp em efluente doméstico tratado.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Isolar diferentes espécies de microalgas do efluente doméstico tratado;
- b) Avaliar o potencial do uso de efluente doméstico tratado sobre a biomassa das espécies *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp;
- c) Quantificar as concentrações de amônia e ortofosfato do efluente.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

O estudo de microrganismos como microalgas deve-se a essencial importância destas nas diversas cadeias tróficas e na possibilidade da aplicação comercial (TABELA 1) em áreas como nutrição, saúde humana e animal, no tratamento de águas residuais, na produção de energia e na obtenção de compostos das indústrias alimentícia, química, farmacêutica, dentre outras (HOMERO, 2007). A este respeito, Muñoz e Guieysse (2006) traz através de uma revisão bibliográfica outras aplicações da biomassa das microalgas, que estão descritos na Tabela 1.

**Tabela 1**– Usos potenciais da biomassa.

Aplicação da biomassa	Exemplos/Comentários	Autores
Alimentação humana	Fonte de proteína e uso na suplementação de produtos como massas, sopas e bebidas.	LIANG et al. (2004)
Rações para animais	<i>Tetraselmis</i> sp <i>Spirulina</i> sp e <i>Chaetoceros</i> sp como fonte de alimento para camarões ou salmonídeos.	BOROWITZKA (1997); DAY (199)
Biomoléculas	Astaxantina, ácido ascórbico, b-caroteno, glicerol.	SPOLAORE et al. (2006); GHIRARDI et al. (2000).
Fertilizantes	Uso da biomassa como fonte de nitrogênio e fósforo em terras agricultáveis.	CHAE et al. (2006)
Produção do Biogás	A digestão anaeróbia da biomassa para produção de metano e gás carbônico.	PERAZOLLI et al. (2013)
Biocombustíveis	Biodiesel a partir do lipídio.	MIRANDA (2011)

**Fonte:** Adaptada de Muñoz e Guieysse, 2006.

As microalgas são constituídas basicamente por proteínas, carboidratos e lipídios. O teor de lipídios encontrados nas microalgas variam em decorrência das espécies de microalga, condições de cultivo, entre outros fatores.

## **2.1 MICROALGAS E A BIORREMEDIAÇÃO**

A biorremediação é uma técnica que utiliza microrganismos para promover a degradação de poluentes com intenção de diminuir ou eliminar contaminantes ambientais (SILVA, 2007). Segundo Martins et al. (2003) a biodegradação realiza-se através do absorção dos contaminantes pelos microrganismos como fonte de carbono, o que permite aos microrganismos biorremediadores produzirem novas células e também, por outro lado, abastecer-se de elétrons que possibilitem a obtenção de energia.

Dua et al. (2002) define que a biorremediação é baseada na degradação microbiana e em reacções químicas combinadas com processos de engenharia, resultando na transformação dos contaminantes, não oferecendo assim, riscos ao meio ambiente e às populações residentes na circunvizinhança do agente contaminante.

## **2.2 EUTROFIZAÇÃO ARTIFICIAL**

O lançamento de resíduos líquidos e sólidos nos corpos hídricos, sem o tratamento prévio, colabora para a eutrofização, que é um processo no qual há um lançamento nos corpos d'água de nutrientes como fósforo, provenientes principalmente de fertilizantes utilizados na agricultura e detergentes usados na limpeza (BAIRD, 2002) e compostos a base de nitrogênio, como uréia e amônia, oriundos basicamente da urina (CETESB, 2008), provocando o crescimento de organismos aquáticos, como por exemplo, as algas planctônicas (cianobactérias) e as macrófitas (plantas aquáticas) (SOUZA, 2010).

## **2.3 SELEÇÃO DE CEPAS DE MICROALGAS**

O termo microalgas não tem valor taxonômico, e engloba microrganismos algais com clorofila- $\alpha$  e outros pigmentos fotossintéticos, os quais são capazes de realizar a fotossíntese oxigênica, e sua caracterização implica a consideração de uma série de critérios (como por exemplo, tipos de pigmentos, a natureza química dos produtos de reserva, os constituintes da parede celular, e os aspectos citológicos e morfológicos) (DERNER et al., 2006). Sendo que o número exato de espécies microalgais ainda é desconhecido (MIRANDA, 2011).

As microalgas são microrganismos, unicelulares, compostos majoritariamente por lipídios, carboidrato e proteínas, dulcícolas ou marinhas, cuja porção lipídica é muito semelhante aos lipídios de origem vegetal, diferindo por conter componentes de alto grau de insaturação (BRANDALIZE, 2014). Segundo Brandalize (2014) as microalgas são organismos que crescem rapidamente e vivem em condições adversas ao meio ambiente

devido a sua estrutura, sendo encontradas nos mais diversos ambientes, não só aquáticos (doce ou salgado), mas também terrestres (úmidos).

Para seu cultivo, Araújo et al., (2012) enfatizam que através da fotossíntese ela se multiplica rapidamente, necessitando apenas de luz, água, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), além de nutrientes e condições ambientais adequadas para cada espécie.

A seleção da cepa a ser estudada é uma parte muito importante da pesquisa. Araújo et al.(2012), advertem que para se ter êxito, é necessário observar algumas condições: (1) uma boa taxa de crescimento, (2) resistência a mudanças de condições ambientais, (3) produtividade elevada de lipídios, (4) facilidade de separação de biomassa e processamento, (5) possibilidade de obtenção de subprodutos de interesse industrial.

Na Tabela 2, é possível verificar a produção de biomassa entre diferentes espécies utilizando diversos meios de cultura.

**Tabela 2** – Quadro comparativo de espécies de microalgas, produção de biomassa e lipídio.

Microalga	Biomassa	Meio de cultura	Autor
<i>Ankistrodesmus</i> sp	841 a 894 mg.L <sup>-1</sup>	Meio sintético (ASM-1)	Miranda, 2011.
<i>Chlamydomonas</i> sp	1,3 a 1,7 g.L <sup>-1</sup>	Efluente doméstico	Neves et al., 2013.
<i>Chlorella minutissima</i> <i>Spirulina</i> sp	1,32 a 1,9 g.L <sup>-1</sup> 0,72 a 1,93 g.L <sup>-1</sup>	Efluente industrial (laticínio)	Bracher et al., 2015.
<i>Chlorella</i> sp <i>Acutodesmus</i> sp	14,78 mg.L <sup>-1</sup> 5,95 mg.L <sup>-1</sup>	Sintético	Marques et al., 2014.
<i>Chlorella</i> sp <i>Scenedesmus</i> sp	180 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> 131,1 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Efluente sanitário	Vidal, 2016.
<i>Chlorella vulgaris</i>	26,6 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Sintético	Antonio et al., 2013.
<i>Chlorella vulgaris</i>	339,7 mg.L <sup>-1</sup>	Meio sintético (CHU)	Cavalcanti et al., 2014.
<i>Chlorella vulgaris</i>	100 a 900 mg.L <sup>-1</sup>	Efluente doméstico	Trevisan et al., 2014.
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Desmodesmus</i> sp <i>Chlorococcales</i>	2220 mg.L <sup>-1</sup> 1280 mg.L <sup>-1</sup> 1400 mg.L <sup>-1</sup>	Efluente doméstico	Lúcio, 2013.
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus obliquus</i>	80 a 860 mg.L <sup>-1</sup> 670 a 1790 mg.L <sup>-1</sup>	Efluente sanitário	Sousa, 2014.

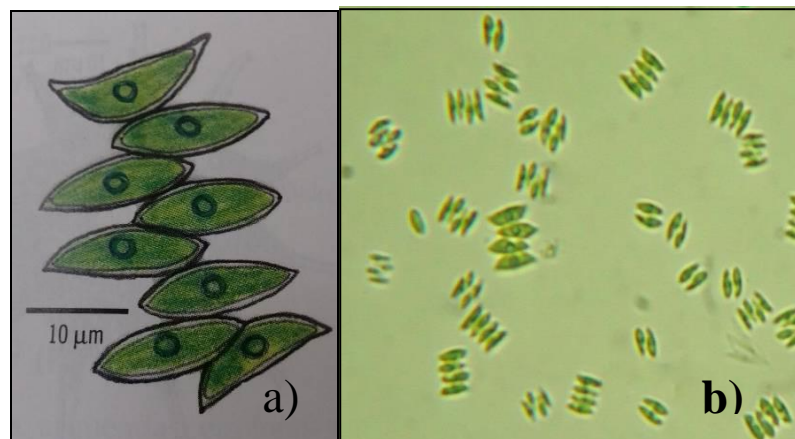
<i>Scenedesmus</i> sp	0,16 a 30,79 mg.L <sup>-1</sup>	Meio sintético	Baumgartner, 2011.
<i>Spirulina</i> sp	4,91 a 91,98 mg.L <sup>-1</sup>		
<i>Scenedesmus</i> sp	2,9 a 6,3 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Meio sintético	Corrêa, 2013.
<i>Scenedesmus</i> sp	500 mg.L <sup>-1</sup>	Meio sintético (CHU)	Dzuman, 2013.
<i>Scenedesmus</i> sp	25 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Meio sintético (ASM-1)	Hakalin, 2014.
<i>Scenedesmus</i> sp	100 a 480 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Efluente industrial (frigorífico bovino)	Oliveira, 2013.
<i>Scenedesmus</i> sp	410 a 864 mg.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup>	Efluente sanitário	Silva, 2014.
<i>Scenedesmus</i> sp	660 a 1720 mg.L <sup>-1</sup>	Efluente industrial (curtume)	Rotermund, 2014.
<i>Spirulina platensis</i>	45 a 2830 mg.L <sup>-1</sup>	Efluente industrial (melaço)	Andrade e Costa, 2008.

n.i. = não informa

Fonte: Autora.

### 2.3.1 *Scenedesmus* sp

As espécies do gênero *Scenedesmus* (pertencente ao filo *Chlorophyta*), são algas verdes formadas por duas a dezesseis (raramente trinta e duas) células elipsoidais, cilíndricas e lunadas dispostas lado a lado em série linear ou em duas séries alternadas. Habitam em lagos rasos, com elevada concentração de nutrientes (FRANCESCHINI, 2010).



**Figura 1** – *Scenedesmus* sp.

Fonte: a) Madigan *et al*, 2010. b) Oliveira, 2013.

Arceo (2012) salienta que a *Scenedesmus* tem capacidade de suportar elevadas concentrações de nutrientes (neste caso seria ideal para o cultivo em águas residuais, visto que as mesmas possuem altas cargas de nutrientes) por ter atividade metabólica elevada, além da capacidade de resistir a variações ambientais severas e é um gênero comumente encontrado em efluentes sanitários.

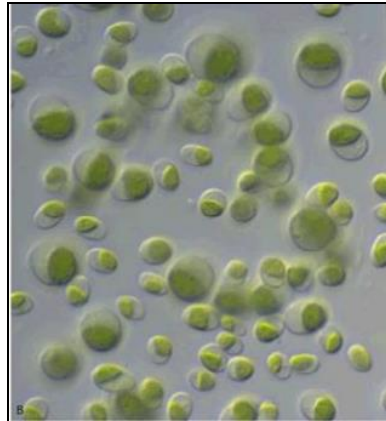
Um dos fatores que mais encarecem o cultivo de microalgas é a adição de nutrientes às culturas. Neste sentido, uma opção economicamente viável que atualmente tem sido discutida é o aproveitamento de efluentes industriais ou domésticos como meio de cultura alternativo (fonte de nutrientes) para o cultivo de microalgas, visto que os efluentes têm uma elevada carga de nutrientes e os meios de cultura sintéticos possuem custos elevados.

Vários pesquisadores têm cultivado *Scenedesmus* sp em efluentes doméstico (LOPES et al. 2016; ROSSI, 2013; SILVA, 2014; SOUSA, 2014; TORRES et al., 2014; VIDAL, 2016) bem como em efluentes industrial (ARCEO, 2012; MICHELON, 2015; OLIVEIRA, 2013; PRANDINI, 2016; ROTERMUND, 2015; TAHER, 2013; TANGO, 2015). Em todos os trabalhos citados, os autores obtiveram sucesso no crescimento deste gênero, considerado um dos gêneros mais promissores para esse fim.

### 2.3.2 *Chlorella* sp

Lúcio (2013) identifica que o nome *Chlorella* é composto do grego (*chloros*, que significa verde) e latim (*ella*, que significa pequeno), ou seja, pequeno ser. A *Chlorella* é um gênero de algas verdes unicelulares, pertencente ao Filo *Chlorophyta*. A mesma, segundo Vidal Junior (2014), apresenta forma esférica, de 5 a 10 micrômetros de diâmetro, não possui flagelos e contém pigmentos fotossintéticos clorofila verde em seu cloroplasto (FIGURA 3). É uma espécie que se multiplica rapidamente, necessitando apenas de CO<sub>2</sub>, água, luz solar e uma pequena quantidade de nutrientes. Antonio et al. (2013) enfatiza que as principais características da *Chlorella* são o crescimento rápido, a alta tolerância às condições de cultivo, o bom potencial para produção de biodiesel devido à sua alta taxa de crescimento, fácil cultivo e difícil contaminação.

Becker (1994) identifica que a microalga *Chlorella* possui 51 a 58% de proteínas, 12 a 17% de carboidratos, 14 a 22% de lipídios, 5% de minerais e mais de 2% de clorofila o que lhe permite um bom crescimento (fotossíntese).



**Figura 2** - *Chlorella* sp.

**Fonte:** Vidal Junior (2014).

Neste sentido, vários pesquisadores tem cultivado *Chlorella* sp em efluentes domésticos (ALVES, 2011; LÚCIO, 2013; MARQUES et al., 2014; RUSSO, 2011; SILVA, N. 2014; SILVA, S. 2007; SOUSA, 2014; TREVISAN et al., 2013 e 2014; VIANA et al., 2014; VIDAL, 2016) e outros cultivaram em efluente industrial (ANTONIO et al., 2013; BONINI, 2012; BRACHER et al., 2015; CAVALCANTI et al., 2014; DELABARY, 2012; MARTINS, 2014; MELO, 2014; MICHELON, 2015; NOVAES JUNIOR et al., 2013; PIMENTA, 2012; PRANDINI, 2016; RODRIGUES e BELLI FILHO, 2004; SILVA, F. 2006; SILVA, J. 2007; TORRES et al., 2014; VIEIRA et al., 2014).

## 2.4 SISTEMAS DE CULTIVO

Os tipos de sistemas de cultivo de microalgas podem ser divididos em dois grupos: cultivo a céu aberto ou tanques abertos (FIGURA 3) e o cultivo em fotobiorreatores fechados (FIGURA 4).



**Figura 3** - Sistema de cultivo aberto.

**Fonte:** <http://www.seston.com.br>





**Figura 4** - Sistema de cultivo fechado (fotobiorreator).

**Fonte:** <https://energiasrenovaveis.wordpress.com>

Segundo Franco et al.(2013), grande parte dos cultivos de microalgas tem sido realizada em lagoas e tanques a céu aberto que utilizam a luz solar e CO<sub>2</sub> da atmosfera. Os tanques possuem vantagens em relação aos custos com sua construção, visto que são mais baixos quando comparado com o sistema fechado. Todavia, apesar da facilidade e menor custo com a construção, devem ser utilizadas espécies que sejam adequadas, pois estarão mais susceptíveis à contaminação por outras espécies reduzindo a produção significativamente. Outras limitações incluem as perdas por evaporação, difusão de CO<sub>2</sub> para a atmosfera e exigência de grandes áreas de terra (TABELA 3).

**Tabela 3** - Principais vantagens e desvantagens do sistema de cultivo a céu aberto.

Vantagens	Desvantagens
Simplicidade na operação.	Menor possibilidade de controle de vários parâmetros de operação.
Menor investimento.	Necessidade de grandes extensões de terra.
Baixos consumos energéticos.	Menores produtividades.
Menores custos de produção.	Ocorrência de elevada evaporação.
	Passível às intempéries.
	Elevado grau de contaminação.

**Fonte:** Adaptada de Sousa, 2014.

Os sistemas fechados são chamados fotobiorreatores, Vidal Junior (2014), aborda que o mesmo é um sistema fechado que fornece um ambiente controlado e permite uma elevada produtividade de microalgas. Pois facilita um melhor controle do ambiente da cultura, tais como o fornecimento de dióxido de carbono, o abastecimento de água, a temperatura ideal, a exposição eficiente de luz, a densidade da cultura, os níveis de pH, a taxa de fornecimento de gás e o regime de mistura. Apesar desses benefícios, o custo de implantação e de operação desses sistemas são superiores aos dos sistemas abertos (TABELA 4).

**Tabela 4** - Principais vantagens e desvantagens do sistema fechado (fotobiorreator).

Vantagens	Desvantagens
Possibilidade de produzir monoculturas.	Complexidade na operação.
Controle dos parâmetros de operação.	Elevado investimento.
Reduzido grau de contaminação.	Elevados consumos energéticos.
Menor necessidade de área de implantação.	Elevados custos de produção.
Maiores produtividades.	
Maior homogeneidade de produção.	
Menores perdas de CO <sub>2</sub> .	
Produção de compostos biofarmacêuticos complexos.	

**Fonte:** Adaptada de Sousa, 2014.

Sendo assim, Sousa (2014) ressalta que a grande vantagem dos fotobiorreatores é a maior produtividade por possibilitarem uma concentração de biomassa superior, não necessitando de áreas muito extensas para a produção, além de ter um tempo de colheita mais curto, permitindo a produção de monoculturas e o controle de todos os fatores de produção (nutrientes, concentração de CO<sub>2</sub>, temperatura, pH). E em relação aos custos, atualmente têm-se desenvolvidos materiais mais baratos e de fácil instalação e manutenção. Entretanto, deve-se estudar as características da microalga a ser utilizada, qual a qualidade da biomassa final a ser requerida, o clima local, a localização geográfica, entre outros fatores, para se decidir qual tipo de sistema será adotado.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 SELEÇÃO DA LAGOA E ISOLAMENTO DAS MICROALGAS

No mês de agosto de 2015 foi realizada a primeira ida a campo, com o objetivo de coletar amostras de esgoto das 4 lagoas de tratamento pertencentes ao Sistema Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) do município de Cacoal, sendo 2 anaeróbias e 2 facultativas.

Paralelo as coletas das amostras de esgoto, foram medidos *in locu* a temperatura e o pH (pHmetro portátil, LT Lutron PH-221), bem como a condutividade elétrica – CE (condutímetro portátil, EC 300), e oxigênio dissolvido – OD (Oxímetro portátil, YSI 55). Após a coleta as amostras foram acondicionadas em garrafas *pet*, colocadas em uma caixa térmica e levadas ao Laboratório de Limnologia e Microbiologia Ambiental-LABLIM.

Posteriormente, foram realizadas as análises dos nutrientes dissolvidos (amônia e fósforo) segundo metodologia descrita em *Standard methods for the examination of water and wastewater* (1998). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 5 e 6.

**Tabela 5** - Características físicas do esgoto coletado em agosto de 2015 no Sistema de Tratamento de Cacoal.

Tipo de Lagoa	pH	T° (°C)	CE (mΩ)	OD (mg/L)
Anaeróbia 1	6,69	29,4	0,87	0,14
Anaeróbia 2	6,75	28,8	0,75	0,09
Facultativa 3	7,44	30,4	0,76	3,39
Facultativa 5	7,31	30,2	0,83	1,54

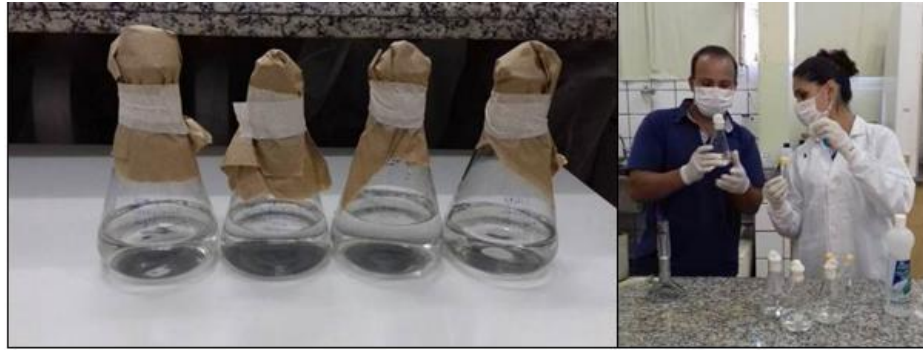
**Tabela 6** - Características químicas do esgoto coletado em agosto de 2015 no Sistema de Tratamento de Cacoal.

Tipo de Lagoa	N - NH <sub>3</sub> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )
Anaeróbia 1	19,30	2,02
Anaeróbia 2	17,46	1,94
Facultativa 3	19,52	2,16
Facultativa 5	18,81	1,97

A partir de uma alíquota de esgoto retirada da amostra de cada lagoa, no laboratório também realizou-se o procedimento para isolamento de microalgas. Tal procedimento consistiu-se em adicionar aproximadamente 2mL do esgoto em placas *Petri* contendo meio de cultura ASM-1 solidificado com ágar 1% (GORHAM, 1964),

### 3.2 MONTAGEM DO EXPERIMENTO

No período de fevereiro a abril de 2016, as cepas de *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp, foram recebendo gradativamente maiores volumes de meio de cultura ASM-1 (Figura 8), visando a obtenção de biomassa para o experimento e pré-adaptação das mesmas a intensidade luminosa da sala de cultivo (aproximadamente 160μmol. fótons.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>) e a temperatura (entre 25°C e 28°C).



**Figura 5** - Adição de meio de cultura ASM-1 com intuito de multiplicação da cepa. Fevereiro de 2016.

**Fonte:** Autora.

Segundo Miranda (2011), a iluminação artificial de cultivos é utilizada para simular intensidades luminosas encontradas em ambientes naturais em faixas que permitam a realização da fotossíntese. Neste experimento, optou-se pela utilização de lâmpadas fluorescentes, Miranda (2011) reforça que essas lâmpadas emitem pouco calor e possui espectro similar a luz natural.

Paralelamente, foi realizado o monitoramento da curva de crescimento das cepas, no intuito de obter os inóculos a serem utilizados no experimento referente à fase exponencial. O monitoramento do crescimento da *Scenedesmus* sp e da *Chlorella* sp ao longo de todo o experimento deu-se a partir de leituras de absorvâncias à 750nm em espectrofotômetro (LAB 1000).

Para a montagem do experimento, nos meses de maio e setembro de 2016 o efluent foi coletado no SAAE do município de Cacoal da Lagoa Facultativa 5 (Figura 6). Ressalta-se que em maio foi realizado o experimento com a *Scenedesmus* sp e em setembro com a *Chlorella* sp.



**Figura 6** - Coleta de esgoto na SAAE, Cacoal, Rondônia. Setembro de 2016.  
**Fonte:** Autora.

A lagoa Facultativa 5 foi selecionada por duas razões: (1) presença de elevadas concentrações de nutrientes os quais são essenciais para o crescimento das microalgas; (2) por ser a última lagoa de tratamento antes do lançamento do esgoto no corpo hídrico receptor, desejou-se também verificar o potencial de remoção de nutriente pelas cepas. Pois se sabe que o lançamento de cargas elevadas de nutrientes em corpos d' água, gera a eutrofização do mesmo.

As características físicas e químicas dos efluentes coletados encontram-se nas Tabelas 7 e 8. A diferença entre os efluentes utilizados no cultivo das microalgas apresentaram composições distintas devido a fatores como a variação sazonal, a vazão do efluente, a operação do sistema de tratamento, entre outros.

**Tabela 7** - Características físico-químicas da Lagoa Facultativa 5 (maio/2016).

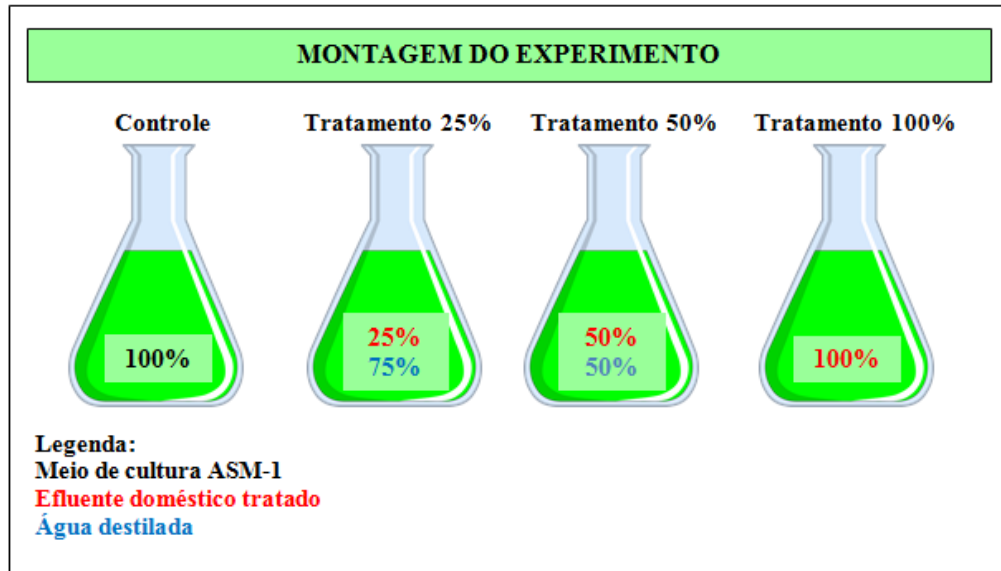
pH	T° (°C)	CE(mΩ)	N - NH <sub>3</sub> +NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )
9,18	29,1	0,81	17,46	1,05

**Tabela 8** - Características físico-químicas da Lagoa Facultativa 5, coleta do mês de setembro/2016.

pH	T° (°C)	CE(mΩ)	N - NH <sub>3</sub> +NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )
8,34	34,3	1,30	20,03	4,77

A montagem do experimento e a porcentagem de diluição do efluente foi baseada na literatura (NEVES et al., 2013; OLIVEIRA, 2013; ROTERMUND, 2015; SILVA 2014). A

montagem procedeu da seguinte forma (1) foi adicionado em cada tratamento 150mL do inóculo na fase exponencial; (2) os volumes de esgoto e água destilada foram adicionadas segundo as porcentagens expressas na Figura 7. O volume final foi de 3.000mL. Após preparo das diluições, os balões foram tampados com tampões de gaze e algodão para permitir a troca gasosa. Em seguida os balões foram autoclavados por 30 minutos. No dia seguinte a autoclavagem, os inóculos foram adicionados (FIGURA 8).



**Figura 7** - Esquema da montagem dos experimentos.

Fonte: Autora.



**Figura 8** - Montagem do experimento. Maio de 2016.

Fonte: Autora.

O experimento ocorreu em triplicata, com fotoperíodo de 12 horas, a temperatura entre 23 e 26°C e intensidade luminosa de aproximadamente  $160\mu\text{mol.fótons.m}^2.\text{s}^{-1}$ . Cada experimento teve a duração de 15 dias e foram retiradas amostras para as análises a partir do dia de montagem T0 (FIGURA 9a e 10a) ao último dia T15 (FIGURA 9b e 10b), tendo um intervalo de 72 horas entre cada coleta.



**Figura 9-** Tempo 0 (a) e Tempo 15 (b), experimento com *Scenedesmus* sp. Maio de 2016.  
**Fonte:** Autora.



**Figura 10-** Tempo 0 (a) e Tempo 15 (b), experimento com *Chlorella* sp. Outubro de 2016.  
**Fonte:** Autora.

### 3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

- **Temperatura e pH:** as medidas de temperatura e pH foram realizadas através do uso de sonda multiparâmetros de bancada (HANNA HI 3512).
- **Crescimento:** o monitoramento do crescimento da *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp ao longo do experimento deu-se de duas formas: (1) por Espectrofotometria, leituras em absorvância à 750nm em espectrofotômetro (marca LAB 1000); e (2) a partir da pesagem da biomassa seca.

Para a filtragem, adotou-se o uso de membranas de microfibras de vidro (SILVA, 2014) (marca Macherey-Nagel GF-3 diâmetro de 47 mm). Um volume conhecido das amostras do controle e dos tratamentos do experimento foi filtrado utilizando sistema Kitassato e Bomba de Vácuo (GAST, modelo DOA-P504-BN). Após a filtragem, as amostras retidas no filtro foram secas em estufa (marca Nova Ética) em 60°C por aproximadamente

duas horas, sendo posteriormente pesadas em balança analítica eletrônica (marca SHIMADZU, modelo AY220).

O cálculo da biomassa ocorreu através da seguinte fórmula:

$$Biomassa(mg \cdot L^{-1}) = \left( \frac{P_2 - P_1}{V} \right) \quad (1)$$

Onde:

$P_1$  = peso do filtro de microfibra de vidro (g);

$P_2$  = peso do filtro de microfibra de vidro com a biomassa (g);

$V$  = volume da amostra filtrada (mL).



**Figura 11-** Biomassa retida no microfiltro de fibra de vidro (Macherey-Nagel GF-3 diâmetro de 47 mm).

**Fonte:** Autora.

- **Nutrientes:** as análises de Amônia ( $N-N_{H_3}+N_{H^{4+}}$ ) e Fósforo Dissolvido ( $P_{O^{4-3}}$ ) foram realizadas por Espectrofotometria, como descrito em APHA (1995).

A análise de amônia consistiu em adicionar em uma cubeta 3ml de amostra previamente filtrada em microfiltros de fibras de vidro (marca Macherey-Nagel GF-3 diâmetro de 47 mm), 60  $\mu$ L do reagente Nessler. Após aproximadamente 10 minutos foi realizada a leitura das absorvâncias no espectrofotômetro. O comprimento de onda utilizado foi de 425 nanômetros.

A análise de fósforo dissolvido, foi realizada adicionando-se em uma cubeta 1,5 ml de amostra previamente filtrada em microfiltros de fibras de vidro (marca Macherey-Nagel GF-3 diâmetro de 47 mm), 1ml de água ultrapura e 0,5ml do reagente Vanadato-Molibidato. No espectrofotômetro o comprimento de onda utilizado para a leitura do fósforo foi de 420 nanômetros.



### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Normando et al. (2010) expõem que a análise estatística dos resultados alcançados em um determinado estudo é uma ferramenta importantíssima na validação desses dados e que a escolha do teste estatístico é importantíssima, tendo em vista que um equívoco poderia levar o pesquisador a conclusões finais inadequadas.

Callegari-Jacques (2003) diz que a significância estatística serve para medir o grau de crença de que a diferença obtida seja falsa. Um resultado não-significativo estatisticamente sugere que é provável que a diferença seja esporádica, determinada por um efeito de amostragem. Por outro lado, se for significativo estatisticamente, indica que a diferença é bastante confiável e é mínima a chance de o resultado ser espúrio (CALLEGARI-JACQUES, 2003).

Os programas adotados para as análises estatísticas dos dados foram o *Microsoft Office Excel 2010* e o *Action 2.8* da Estatcamp, assumindo p-valor = 0,05.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ISOLAMENTO DA MICROALGA

A tentativa de isolamento realizada na primeira coleta (agosto de 2015) não obteve sucesso. Durante o período de monitoramento para acompanhar o crescimento das microalgas na placa, observou-se que não houve crescimento das mesmas, apenas de uma densidade elevada de bactérias (FIGURA 12).



**Figura 12** - Placas Petri com Meio ASM-1 solidificado com amostras do efluente para tentativa de isolamento de cepa. Agosto de 2015.

**Fonte:** Autora.

Desta forma, optou-se pela seleção de duas cepas de microalgas das espécies *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp gentilmente cedidas pelo Banco de Cepas do Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias (LETC) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em fevereiro de 2016.

Ressalta-se que para a coleta realizada em setembro de 2016, foi realizado o procedimento de isolamento já descrito. Nesta segunda tentativa de isolamento obteve-se sucesso. A Figura 13 evidencia o desenvolvimento das microalgas nos tubos de ensaio.



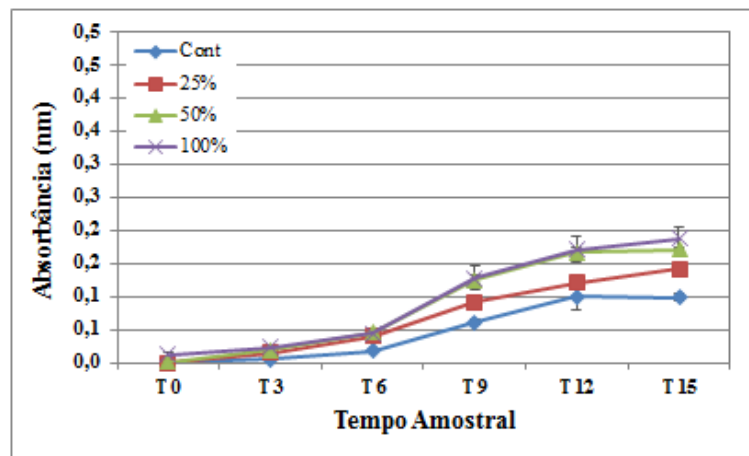
**Figura 13** - Isolamento de microalgas em andamento, 2016.

Fonte: Autora.

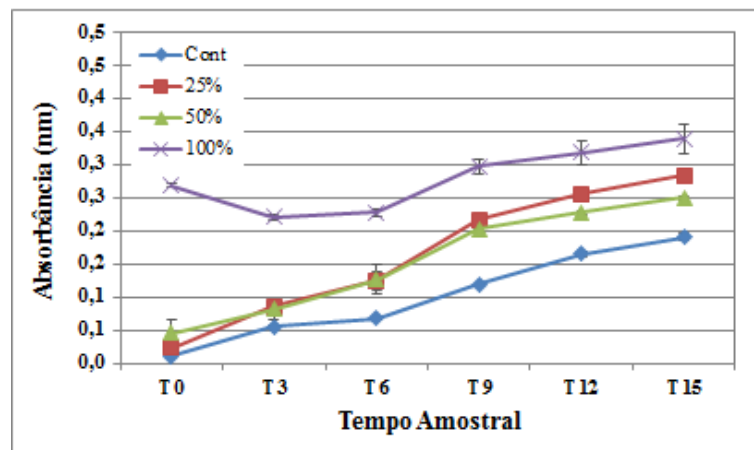
## 4.2 ANÁLISE DO CRESCIMENTO

### 4.2.1 Absorbância

Na Figura 14 encontra-se o perfil de crescimento da *Scenedesmus* sp no controle e nos diferentes tratamentos ao longo do experimento.



**Figura 14** - Crescimento da *Scenedesmus* sp.



**Figura 15** - Crescimento da *Chlorella* sp.

Após três dias do início do experimento, a microalga *Scenedesmus* sp já estava adaptada às novas condições de cultivo e iniciou seu crescimento. No tempo inicial (T0), verificou-se que no tratamento 50% e 100% a absorvância foi um pouco maior quando comparado aos outros cultivos. Esse fato é decorrente da presença de grande quantidade de matéria orgânica devido também a não diluição do efluente. No início do experimento o crescimento é menor por ser uma fase em que as microalgas passam a sintetizar as moléculas essenciais ao seu crescimento (proteínas e enzimas) e absorverem nutrientes (RUSSO, 2011).

A partir do T6 foi possível observar claramente a fase log exponencial, fase em que as células das microalgas iniciam sua divisão celular, devido à grande disponibilidade de nutrientes, fase esta de maior metabolismo. Para os tratamentos 25%, 50% e 100% esta fase foi observada até o último dia do experimento (T15). Já para o controle, foi observada até o T12.

No cultivo com *Scenedesmus* sp houve uma diferença estatística significativa entre o controle e os demais tratamentos em todo o período amostral (p-valor < 0,05). Já os tratamentos 50 e 100% apresentaram crescimento estatisticamente semelhante a partir do T6 (p-valor > 0,05). Ao término do experimento foi possível constatar que a *Scenedesmus* sp se adaptaram ao efluente doméstico como meio de cultivo.

No cultivo de *Chlorella* sp, constatou-se através dos testes estatísticos que houve uma diferença estatística significativa entre o Controle e os demais Tratamentos em todo o período amostral (p-valor<0,05). Entretanto, os Tratamentos 25% e 50% tiveram valores semelhantes para o crescimento nos dias T3 e T6 (p-valor >0,05).

Tal comportamento vem ao encontro da pesquisa realizada por Silva (2014), que cultivou *Scenedesmus quadricauda* em efluente sanitário biodigerido durante 21 dias. O efluente foi diluído em 10%, 15% e 25% em água destilada. A autora, baseada na densidade celular (cel.mL<sup>-1</sup>), observou um bom crescimento em todos os tratamentos, mas o tratamento com diluição de 25% teve um crescimento maior quando comparado aos outros, tornando assim uma possível substituição do meio sintético pelo efluente em questão. Os cultivos começaram com uma concentração celular de 202x10<sup>4</sup>cel.mL<sup>-1</sup>, sendo o melhor resultado obtido no tratamento 25% com uma concentração final de 1573±12x10<sup>4</sup>cel.mL<sup>-1</sup>, ao passo que o tratamento 10% obteve 1404±37x10<sup>4</sup>cel.mL<sup>-1</sup> e o 15% 10<sup>14</sup>±78x10<sup>4</sup>cel.mL<sup>-1</sup>.

Quanto ao perfil do crescimento de *Chlorella* sp (FIGURA 15), a fase lag teve a duração de aproximadamente três dias (adaptação ao novo meio de cultivo). A partir do T3 foi possível observar claramente a fase exponencial para os tratamentos, com exceção do

tratamento 100% onde a fase log foi verificada a partir do T6, assim como o controle. Esta fase foi observada até o último dia do experimento (T15).

Quando compara-se o perfil do crescimento de *Secenedesmus* sp e *Chlorella* sp, nota-se que os valores de absorvância para *Chlorella* sp foram superiores desde o início do experimento. Tal resultado é decorrente ao fato de se tratar de efluente doméstico tratado, que mesmo após autoclavagem, apresenta elevados níveis de materiais dissolvidos e particulados (TREVISAN, 2014). Estes materiais estavam presentes em maior quantidade no esgoto coletado em setembro de 2016 que foi utilizado para o cultivo de *Chlorella* sp, e foi observado os maiores valores principalmente no tratamento 100%, visto que não há diluição com água destilada.

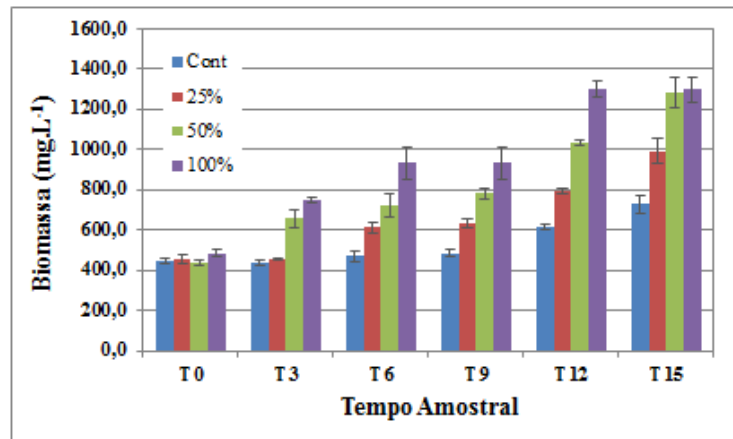
Trevisan (2014) observou comportamento semelhante ao cultivar *Chlorella vulgaris* em efluente doméstico coletado de uma ETE durante experimento de 14 dias. Sendo que o cultivo com efluente doméstico foi usado em três condições diferentes: (1) inicialmente o efluente foi utilizado nas condições em que foi coletado; (2) na segunda condição foi usada filtração para a remoção de material com tamanho maior de  $7\mu\text{m}$  e; (3) na terceira condição de cultivo foi aplicada a filtração de material com tamanho maior de  $7\mu\text{m}$ , seguida de desinfecção com luz ultravioleta. O efluente foi diluído em 7:1, 6:2, 5:3 e 4:4 (volume de esgoto doméstico/volume de inóculo), sendo que o inóculo foi cultivado em meio sintético DM. Trevisan (2014) verificou que quando utilizou o efluente *in natura* não obteve um crescimento consistente, tendo em vista que o efluente de reator anaeróbio possui uma variedade de protozoários e bactérias que competem por luz e nutrientes e microrganismos que se alimentam de microalgas, demonstrando assim a necessidade de realizar tratamento para remoção do material suspenso e microrganismos. Sobre a segunda condição de cultivo, destacou que a aplicação de pré-tratamento de filtração de material suspenso com tamanho maior que  $7\mu\text{m}$  resultou em melhoria significativa nos resultados de crescimento. Sendo que essa diferença na produção com efluente filtrado + UV, filtrado e *in natura* fica claro quando observado os valores máximos obtidos para a produção de biomassa, onde o efluente filtrado + UV atingiu  $0,86\text{g.L}^{-1}$ , filtrado atingiu  $0,81\text{g.L}^{-1}$ , bem superiores ao obtido com material *in natura*, que foi de  $0,43\text{g.L}^{-1}$ . Segundo o autor, a presença de material suspenso e microrganismos reduzem a disponibilidade de luz e nutrientes para as microalgas, influenciando a produção de biomassa algal.

Vieira et al. (2014), cultivaram *Chlorella* sp em efluente industrial de sucroalcooleira (vinhaça) durante 5 dias (período onde elas atingiram a fase estacionária), com as seguintes diluições 10%, 15%, 20% e 25% de vinhaça em meio BBM. Os autores

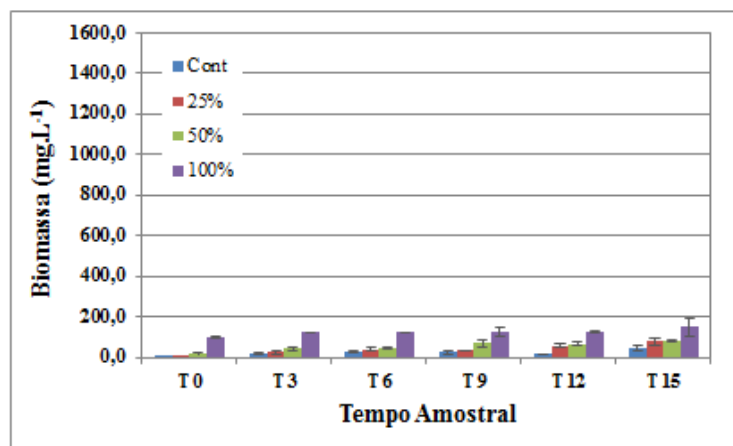
observaram que com a utilização de meio de cultura suplementado com vinhaça ocorreu um crescimento maior juntamente com um consumo mais satisfatório da fonte de carbono por microalgas em meios mais complexos, como os resíduos líquidos industriais, que quando se utilizam meios de cultivo padrão suplementado com uma fonte de carbono. Com a concentração de 10% atingiu-se um número máximo de células de  $2,57 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$  em um tempo de cultivo de 5 dias, com 15% obteve-se um número máximo de células igual a  $1,85 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$ , com 20% o valor máximo de células foi  $6,95 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$  e por fim, o cultivo com diluição de 25% atingiu  $2,08 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$ . Portanto, os autores concluíram que a suplementação de 10% foi o tratamento que obteve o melhor crescimento, verificando-se uma excelente adaptação das células a nova composição do meio de cultivo.

Sendo assim, Vieira et al. (2014) observaram que o excesso de material em suspensão presente na vinhaça pode ter prejudicado no crescimento celular quando utilizado proporções maiores de 10% ao meio de cultivo, ressaltando assim a importância de efetuar um tratamento prévio da vinhaça, para que não dificulte o crescimento das células ao ser adicionado o resíduo líquido como meio de cultura.

#### 4.2.2 Biomassa



**Figura 16** – Valores médios da biomassa seca produzida por *Scenedesmus sp.*



**Figura 17** – Valores médios da biomassa seca produzida por *Chlorella sp.*

Com relação à obtenção de biomassa utilizando *Scenedesmus sp* todos os tratamentos foram viáveis, destacando-se os tratamentos 50% e 100% (FIGURA 16). Sendo que os valores máximos obtidos durante o cultivo foram  $1283\text{mg.L}^{-1}$  para o Tratamento 50% (dia T15) e  $1300\text{mg.L}^{-1}$  para o Tratamento 100% (no tempo T12 e T15).

Rotermund (2015) ao cultivar *Scenedesmus sp* durante 18 dias em efluente proveniente de um curtume com diluições de 25%, 50%, 75% e 100% verificou que a espécie *Scenedesmus sp* apresentou uma boa adaptação ao efluente em questão como meio de cultivo e que o tempo necessário para a adaptação da microalga ao meio foi diferente em cada tratamento devido às diferentes diluições do efluente, sendo que o tratamento com diluição de 50% apresentou maior produção de biomassa. Rotermund (2015) expressa que as concentrações de biomassa ao final do cultivo foram de  $1460\text{mg.L}^{-1}$  para a diluição de 25%;  $1720\text{mg.L}^{-1}$  para 50%;  $890\text{mg.L}^{-1}$  para 75% e  $660\text{mg.L}^{-1}$  para 100%.

Oliveira (2013), cultivou *Scenedesmus* sp em efluente de bovinocultura biodigerido filtrado com as seguintes diluições em água: 0% (somente meio CHU), 10%, 15%, 20%, 25% e 30%; durante 10 dias. A autora constatou que a maior produtividade de biomassa em relação ao meio sintético Chu, correspondeu ao experimento realizado com a condição de 30% do efluente de bovinocultura biodigerido, atingindo uma produtividade de biomassa seca igual a  $480\text{mg.L}^{-1}$ .

Como observado na Figura 17 que traz a produtividade de biomassa utilizando *Chlorella* sp, obteve-se os maiores resultados no Tratamento 50% e 100% sendo igual a  $82\text{mg.L}^{-1}$  e  $152\text{mg.L}^{-1}$  respectivamente. Vidal (2016) apresentou valores próximos quando utilizou 100% de efluente. Os Tratamentos 25% e 50% após 10 dias de cultivo, obtiveram valores próximos ao final do experimento,  $80\text{mg.L}^{-1}$  e  $82\text{mg.L}^{-1}$  respectivamente.

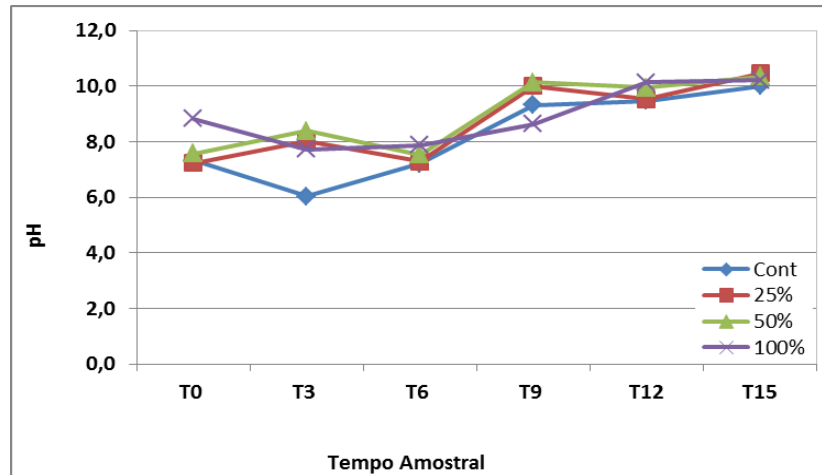
Vidal (2016) cultivaram *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp em efluente doméstico proveniente de um reator UASB suplementado com meio BBW e WC, durante 10 dias. O efluente durante o preparo do meio foi previamente filtrado, e posteriormente diluído a: 20%, 30%, 50%, 70%, 80% e 100%. Para o cultivo de *Chlorella* sp, a autora encontrou os seguintes valores de biomassa ao final do cultivo:  $112\text{mg.L}^{-1}$  (0%),  $171\text{mg.L}^{-1}$  (20%),  $84\text{mg.L}^{-1}$  (30%),  $125\text{mg.L}^{-1}$  (50%),  $106\text{mg.L}^{-1}$  (70%),  $133\text{mg.L}^{-1}$  (80%) e  $180\text{mg.L}^{-1}$  (100%). Já no cultivo de *Scenedesmus* sp, foram obtidos  $95,6\text{mg.L}^{-1}$  (0%),  $92,1\text{mg.L}^{-1}$  (20%),  $96,9\text{mg.L}^{-1}$  (30%),  $83,5\text{mg.L}^{-1}$  (50%),  $83,8\text{mg.L}^{-1}$  (70%),  $96,1\text{mg.L}^{-1}$  (80%) e  $84,4\text{mg.L}^{-1}$  (100%). De forma que os valores referentes a produtividade de biomassa foram mais expressivos para a *Chlorella* sp quando comparados com a *Scenedesmus* sp.

Sousa (2014), ao cultivar *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em efluente sanitário sem adição de qualquer suplemento verificou que *Chlorella vulgaris* por 14 dias obteve valor máximo de biomassa  $440\text{mg.L}^{-1}$  no dia 4; *Scenedesmus obliquus* durante 13 dias, tendo alcançado um valor máximo de biomassa de  $1310\text{mg.L}^{-1}$  no dia 13; *Chlorella vulgaris* durante 43 dias, verificando valor máximo de biomassa no dia 9 de  $860\text{mg.L}^{-1}$  e *Scenedesmus obliquus* durante 28 dias observando uma produtividade de biomassa de  $1790\text{mg.L}^{-1}$  no dia 12.

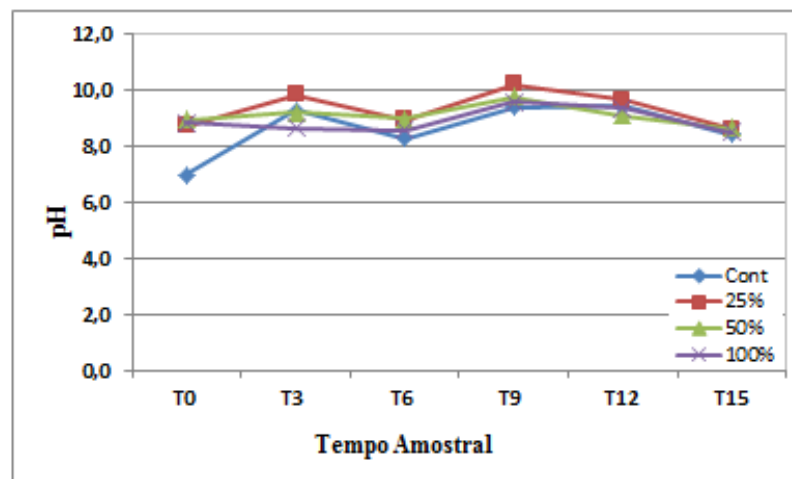
### 4.3 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO (pH)

Esteves (2011), enfatiza que o pH e as comunidades vegetais apresentam uma estreita interdependência. Este fenômeno ocorre na medida que as comunidades aquáticas interferem no pH, assim como o pH interfere de diferentes maneiras no metabolismo destas comunidades. Sobre as comunidades, o pH atua diretamente nos processos de permeabilidade

da membrana celular, interferindo, portanto, no transporte iônico intra e extracelular e entre os organismos e o meio. As comunidades podem interferir nos valores de pH de diferentes maneiras, como através da assimilação de  $\text{CO}_2$  durante o processo fotossintético que pode elevar o pH.



**Figura 18** - Valores de pH no experimento com *Scenedesmus sp.*



**Figura 19** - Valores de pH no experimento com *Chlorella sp.*

No experimento com *Scenedesmus sp.*, o menor valor de pH foi registrado no T3 (6,0), caracterizado como levemente ácido. Neste tempo amostral, os tratamentos 25%, 50% e 100% encontravam-se alcalinos, 8,0, 8,4 e 7,6, respectivamente (Figura 18). Apenas a partir do 9º dia amostral foi observado meio alcalino no controle, com média 9,3. Desta forma, do T9 até o término do experimento T15, tanto o controle como os tratamentos estavam alcalinos.

Através da Figura 19, observa-se a variação do pH durante o período amostral no experimento com a *Chlorella sp.*, onde observou-se comportamento semelhante ao experimento com a *Scenedesmus sp.* O menor valor encontrado durante todo o experimento foi encontrado no primeiro dia no Controle (6,9) e o maior valor foi o pH 10,2 no tempo amostral T9 no Tratamento 25%. No dia (T0, Controle) onde foi encontrado o menor valor de



pH, é importante frizar que os tratamentos 25%, 50% e 100% já estavam alcalinos, tendo valores iguais a 8,7, 8,9 e 8,8. Logo, desde o T3 até o término do experimento foi observado que o meio permaneceu alcalino.

Ao comparar os dados de crescimento celular de *Scenedesmus* sp (Figura 18) e *Chlorella* sp (FIGURA 19), observa-se que o aumento do pH ocorre paralelo ao crescimento das microalgas. Esteves (2011), enfatiza que em casos de elevado crescimento algal, o pH do meio pode ser elevado a valores próximo a 11. Isso ocorre em função do elevado consumo de CO<sub>2</sub>, provocando o consumo de bicarbonato e a liberação de OH<sup>-</sup> no meio.

Silva (2014), cultivou *Scenedesmus* sp em esgoto sanitário biodigerido por 25 dias. Durante todo o período amostral, os valores de pH variaram de 6,0 a 9,0. Rossi (2013), ao cultivar *Desmodesmus* sp e *Scenedesmus* sp em efluente doméstico por 20 dias, verificou que o maior número de células foi entre pH 9,2 e 11,2, e menores densidades celulares foram observadas no pH 6,2. Concluindo assim, que um ambiente alcalino é o mais adequado para o crescimento das cepas estudadas.

Este aspecto também é comentado por Corrêa (2013) quando cultivou *Scenedesmus* em meio CHU modificado, durante 100 dias, observando a amplitude de variação de pH entre 7,37 (início do cultivo) à 11,37 (final do cultivo). Tal resultado reforça que apesar do pH permanecer acima de 10 durante a maior parte do cultivo, a alcalinidade não pareceu ser um fator que impossibilitasse o crescimento das microalgas e consequente aumento de biomassa.

Vidal (2016), buscando analisar a influência de diferentes condições de pH, desenvolveu cultivos de *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp em meio de cultura BBM e WC, com várias alterações de pH. Destaca-se que os cultivos (com uma variação de pH de 5,5 a 8,5) de *Chlorella* sp iniciaram com uma densidade celular de 10<sup>5</sup>cel.mL<sup>-1</sup>, todos os cultivos apresentaram uma ótima adaptação, mas dentre os cultivos que mais se destacaram foi o realizado com o pH 8,5 apresentando densidade celular igual a 4,79x10<sup>7</sup>cel.mL<sup>-1</sup>. Para o cultivo de *Scenedesmus* sp a variação do pH foi de 5,0 a 9,0, o cultivo foi iniciado com uma densidade celular de 10<sup>5</sup>cel.mL<sup>-1</sup>, a autora observou que o cultivo com pH 8,5 foi o que apresentou maior densidade celular (1,76x10<sup>7</sup>cel.mL<sup>-1</sup>), assim como os melhores resultados de velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração. Ao comparar o cultivo de *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp, concluiu-se que os meios de cultura em pH alcalino promovem melhor adaptação e crescimento para a microalga estudada.

Torres et al. (2014), ao estudar *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp cultivadas em esgoto tratado, observou que a presença de precipitados no efluente, mesmo após a autoclavagem e resfriamento, contribuem para a elevação do pH. Sendo que o autor verificou que antes de

autoclavar o esgoto, o valor do pH era de 7,6 e depois do processo de autoclavagem e resfriamento aumentou para 10,0. O que, segundo Torres et al. (2014) implicaria em mudança do equilíbrio das espécies de fosfatos, resultando na precipitação de sais insolúveis de fosfato, na forma de fosfato de cálcio, a hidroxiapatita e a estruvita.

No experimento com *Secendesmus* sp, foi observado que as médias de pH do Controle e do Tratamento 25% nos tempos amostrais T0, T6 e T12 e entre o Controle e o Tratamento 50% no tempo T6 foram iguais (p-valor > 0,05). Os Tratamentos 25% e 50% durante os tempos T6 e T15 obtiveram o mesmo valor de pH. Os Tratamentos 50% e 100% alcançaram o mesmo valor do pH nos tempos amostrais T12 e T15 (p-valor > 0,05).

No experimento com a *Chlorella* sp, através dos testes estatísticos, observou-se que (p-valor > 0,05) entre o Controle e os Tratamentos 25%, 50% e 100% no tempo amostral T3 e entre o Controle e o Tratamento 100% no tempo T15. Entre os tratamentos 25% e 50% também houve semelhança estatística durante os tempos T0, T6 e T15 (p-valor > 0,05). Os Tratamentos 25% e 100% só mostraram semelhança estatística significativa (p-valor > 0,05) no tempo amostral T0. Além disso, os Tratamentos 50% e 100%, mostraram-se semelhantes (p-valor > 0,05) no tempo amostral T0 e T12.

## 4.4 ANÁLISE DE NUTRIENTES

### 4.4.1 Amônia (N-NH<sub>3</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

Os elementos mais importantes para o crescimento das microalgas, incluem o carbono, o nitrogênio e o fósforo (PRANDINI, 2016).

Zhou (2014) afirma que o nitrogênio é um nutriente essencial para a produção de biomassa de algas, sendo essencial em muitos componentes celulares das algas, tais como alcalóides, amidas, aminoácidos, proteínas, DNA, RNA, enzimas e vitaminas, representando de 1 a 10% da biomassa total (massa seco) de algas, dependendo da disponibilidade. A maioria das microalgas são espécies capazes de utilizar uma variedade de fontes de nitrogênio, incluindo o nitrogênio orgânico (por exemplo, ureia, glicina, glutamina, peptona, extrato de levedura, etc.) e nitrogênio inorgânico (por exemplo, amônia, nitrato, nitrito etc.) Zhou (2014). Sendo que a amônia é considerada a forma preferencial de nitrogênio assimilado pelas microalgas (ZHOU, 2014).

A amônia é o produto final da mineralização, aeróbica e anaeróbica, do nitrogênio orgânico particulado ou dissolvido, e pode ser gerado pela atividade de organismos heterotróficos por meio de diversas reações bioquímicas (ESTEVES, 1998).

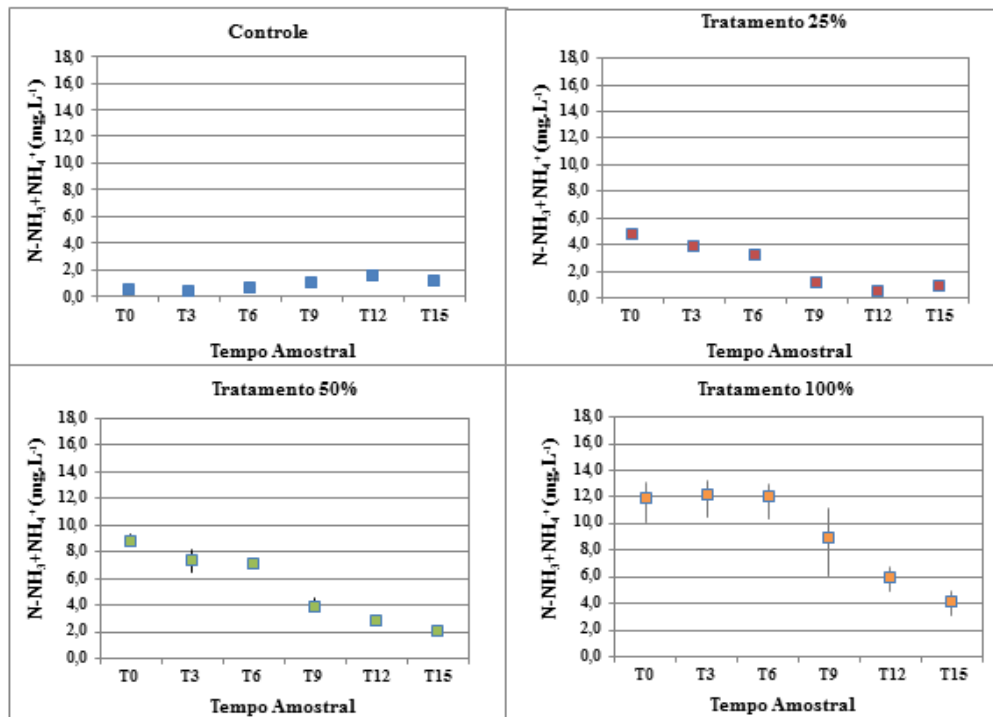


Figura 20 - Concentração de Amônia no experimento com *Scenedesmus sp.*

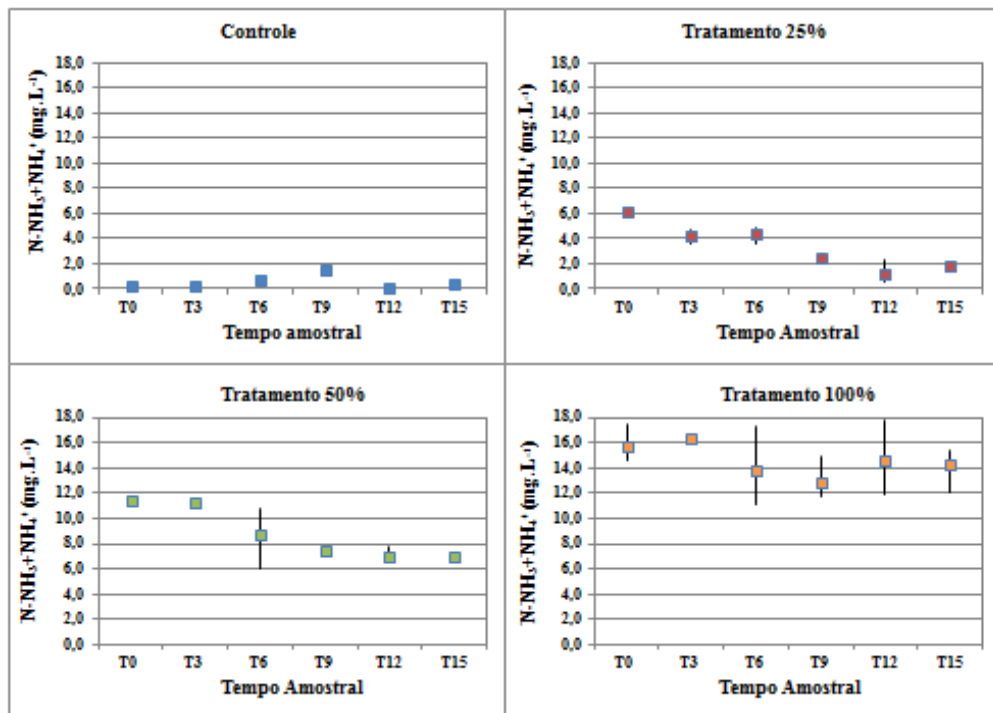


Figura 21- Concentração de Amônia no experimento com *Chlorella sp.*

As concentrações de amônia são apresentadas nas Figuras 20 e 21. No experimento com a *Scenedesmus sp* (FIGURA 20), no controle observou-se que não houve diferenças significativas entre as concentrações ao longo do tempo. Já nos tratamentos 25%, 50% e 100%, as concentrações de amônia decaíram ao longo do tempo. No Tratamento 25% a

concentração no T0 foi de  $4,7\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $0,88\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 81,3%). No Tratamento 50% a concentração no T0 foi de  $8,8\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 76,7%) a  $2,05\text{mg.L}^{-1}$  e no Tratamento 100% foi de  $12\text{mg.L}^{-1}$  a  $4,15\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 62,5%).

As microalgas têm como principal forma de nitrogênio o nitrato, o nitrito e a amônia, sendo esta última preferencialmente absorvida por haver menos gasto energético, pois encontra-se na forma reduzida (REYNOLDS, 2006). Por essa razão, durante o experimento nos tratamentos observou-se rápido consumo deste nutriente pelas microalgas.

Durante os experimentos, foi verificado que os tratamentos que continham efluente doméstico (independente da concentração, 25% e 50% 100%) tiveram as maiores concentrações de amônia, devido à carga de poluentes.

O comportamento da amônia no controle, onde foi observado um leve aumento do T6 ( $0,640\text{mg.L}^{-1}$ ) ao T12 ( $1,6\text{mg.L}^{-1}$ ) pode estar relacionado à não absorção deste íon, devido haver no meio maior concentração de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), preferencialmente absorvido pelas microalgas quando há baixas concentrações de amônia.

Oliveira (2013) verificou remoção de aproximadamente 100% do nitrogênio amoniacal da *Scenedesmus* sp utilizando efluente industrial como meio de cultura. Já Silva (2014) verificou um valor um pouco menor (76%), mas mesmo assim muito significativo, tendo o efluente doméstico como meio de cultura. Torres et al. (2014), em sua pesquisa utilizando *Scenedesmus* sp e meio de cultura efluente doméstico filtrado, obteve uma remoção de amônia em torno de 100% comparado ao valor inicial.

Rotermund (2015), cultivou *Scenedesmus* sp durante 18 dias em efluente proveniente de um curtume com as seguintes diluições 25%, 50%, 75% e 100%. De forma geral verificou uma remoção entre 76,4 e 98,3% para o nitrogênio amoniacal e entre 77,1 e 92,9% para o nitrogênio total.

Em relação à análise estatística da amônia, para o experimento com *Scenedesmus* sp, observou-se que as concentrações de amônia no controle e nos tratamentos foram diferentes ao longo do tempo ( $p\text{-valor} < 0,05$ ).

Com relação às concentrações de amônia no experimento com a *Chlorella* sp, (FIGURA 21), foi observado nos tratamentos 25%, 50% e 100% um decréscimo ao longo do tempo, comportamento semelhante ao experimento com a *Scenedesmus* sp. No controle, apesar da pouca variação quando comparado aos tratamentos, também foi observado neste experimento um aumento nas concentrações do T0 ( $0,096\text{mg.L}^{-1}$ ) em relação ao T15 ( $0,190\text{mg.L}^{-1}$ ), tal resultado está relacionado ao fato que da mesma forma que os organismos aquáticos assimilam compostos nitrogenados os mesmos também excretam, contribuindo para

o aumento das concentrações no meio extracelular. Haja vista que, a amonificação e a excreção por organismos aquáticos são as principais fontes deste composto para os ecossistemas aquáticos (ESTEVEES, 1998).

No Tratamento 25% a concentração no T0 foi de 6,2mg.L<sup>-1</sup> e no T15 foi de 1,8mg.L<sup>-1</sup> (redução de 70%). No Tratamento 50% a concentração no T0 foi de 11,4mg.L<sup>-1</sup> a 6,4mg.L<sup>-1</sup> (redução de 39%) e no Tratamento 100% foi de 15,7mg.L<sup>-1</sup> a 14,2mg.L<sup>-1</sup> (redução de 9,5%).

Lúcio (2013), ao cultivar *Chlorella vulgaris* em 100% efluente doméstico tratado, durante 14 dias, verificou uma remoção de amônia em torno de 100% comparada ao início do experimento (aproximadamente no início 10mg.L<sup>-1</sup>).

Sousa (2014) cultivou *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em efluente sanitário sem adição de qualquer suplemento, em quatro etapas: (1) cultivou *Chlorella vulgaris* durante 14 dias e a remoção máxima de amônia total foi de 84%; (2) cultivou *Scenedesmus obliquus* durante 13 dias, tendo alcançado uma remoção total de 95% para amônia total; (3) cultivou *Chlorella vulgaris* durante 43 dias, verificando assim uma remoção de 76% de amônia ao final do experimento e; (4) cultivou *Scenedesmus obliquus* durante 28 dias observando uma remoção de 80% em relação a amônia.

Já Torres et al. (2014), ao cultivar *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp em efluente sanitário tratado sem adição de suplemento durante 14 dias, verificou uma remoção de amônia ao final do experimento em torno de 66,2% e 66,9% respectivamente.

No meio aquático, em sistemas de pH entre ácido e neutro, a amônia formada é instável, sendo convertida por hidratação a íon amônio ( $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$ ). Já em meio alcalino, a possibilidade de ocorrência deste processo é reduzida, e parte da amônia formada pode ser perdida para atmosfera por difusão (ESTEVEES, 1998).

Em relação à análise estatística da amônia para o experimento com a *Chlorella* sp, observou-se que houve diferença entre os cultivos (p-valor < 0,05), com exceção do Controle e o Tratamento 25% que tiveram valores iguais no T9 (p-valor >0,05).

A Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA n° 430 de 13 de maio de 2011 traz que

[...] os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente no corpo receptor desde que obedeçam as condições e padrões previstos neste artigo, resguardadas outras exigências cabíveis. (Artigo 16).

Em termos de teores de nitrogênio amoniacal total o valor máximo permitido é de 20mg.L<sup>-1</sup>. A concentração inicial de amônia total do efluente no início dos experimentos foi de

17,46mg.L<sup>-1</sup> (maio/2016) e 20,0mg.L<sup>-1</sup> (setembro/2016), sendo assim, já começamos o experimento dentro do padrão preconizado pela legislação vigente.

#### **4.4.2 Fósforo dissolvido (PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>)**

O fósforo é um elemento importante para os organismos vivos, visto que está presente na maioria dos compostos bioquímicos essenciais à vida (ácidos nucleicos, DNA e RNA), sendo fundamental ao armazenamento e à transferência de energia (ATP). O fósforo está presente em elevadas concentrações nos efluentes industriais e domésticos, os quais contêm grande quantidade de matéria orgânica e compostos fosfatados, intrínsecos à maioria dos detergentes (FERREIRA et al, 2005). No Brasil, os efluentes domésticos são responsáveis pelo lançamento de até 600 toneladas de fósforo por dia em rios e lagos, agravando o problema da eutrofização artificial (FERREIRA et al, 2005).

Segundo Cai et al. (2013) embora a biomassa de microalgas possua menos do que 1% de fósforo, este nutriente pode limitar o crescimento da microalga. O autor informa que esse fator é porque o fósforo é facilmente ligado a outros íons (por exemplo, cálcio e ferro), resultando na sua precipitação e, por conseguinte, tornando este essencial nutriente indisponível para absorção pelas algas.

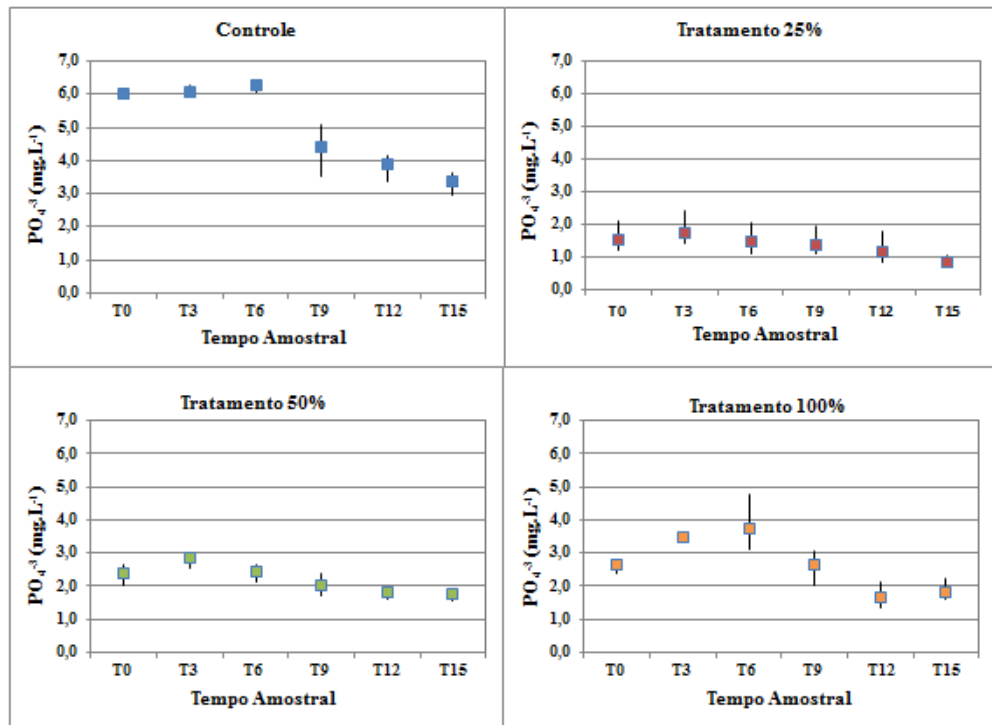


Figura 22 - Concentrações de fósforo dissolvido no experimento com *Scenedesmus* sp.

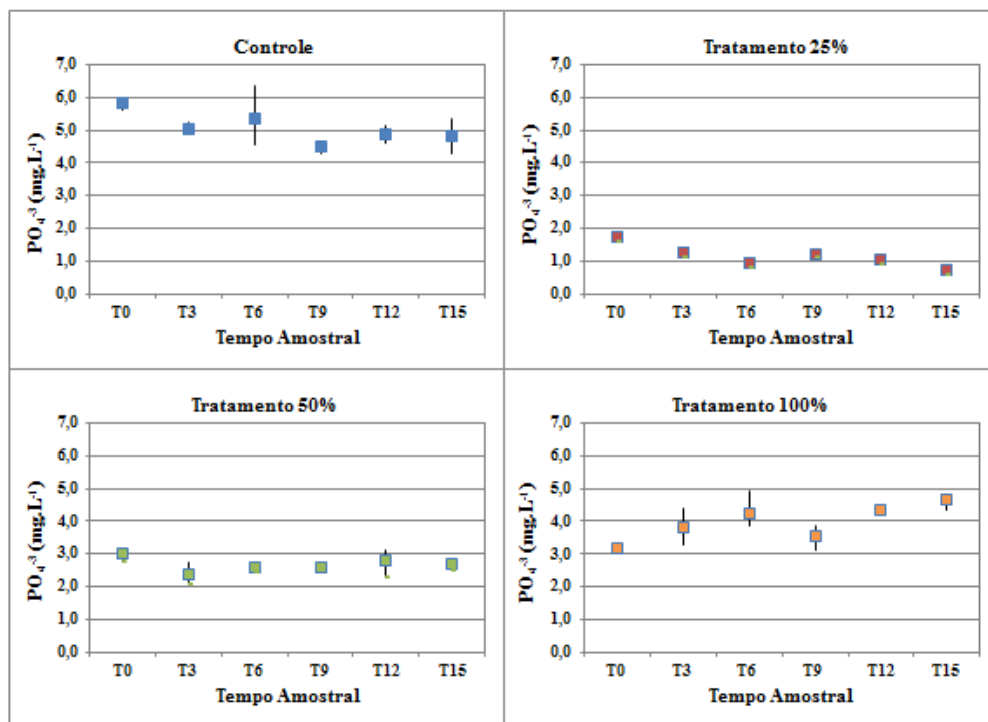


Figura 23 - Concentrações de fósforo dissolvido no experimento com *Chlorella* sp.

A Figura 22 apresenta as concentrações de fósforo dissolvido no controle e nos tratamentos 25%, 50% e 100% durante o experimento com a *Scenedesmus* sp. Em relação aos resultados obtidos, foi verificado que no controle as concentrações de fósforo dissolvido no meio decaem a partir do T9. Já para os tratamentos 25%, 50% e 100%, esta diminuição foi

observado a partir do T6, tempo amostral este em que as microalgas encontravam-se no início de fase exponencial, como apresentado na Figura 14.

Na maioria dos cultivos foi observada uma diminuição da concentração a partir do T9. No controle a concentração no T0 foi de  $6,03\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $3,4\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 43,9%). No tratamento 25%, a concentração no T0 foi de  $1,5\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $0,9\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 44%), no tratamento 50% a concentração no T0 foi de  $2,4\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $1,8\text{mg.L}^{-1}$  (redução de 26,7%) e no tratamento 100% foi de  $2,6\text{mg.L}^{-1}$  no T0 e de  $1,8\text{mg.L}^{-1}$  no T15 (redução de 30,7%).

Em relação à análise estatística, os tratamentos 25% e 50% no tempo T12 apresentaram o mesmo comportamento ( $p\text{-valor}>0,05$ ). Assim como o tratamento 50% e o 100% nos tempos amostrais T0, T12 e T15.

Ao comparar os dados de crescimento e concentração de fósforo disponível no meio, verificou-se que com o passar do tempo, o crescimento aumentou e as concentrações de fósforo dissolvido no meio diminuíram, reflexo da absorção deste elemento pelas células de *Scenedesmus* sp. Oliveira (2013) aborda que as microalgas são capazes de absorverem grandes quantidades de fósforo, 8 a 16 vezes a mais que a cota mínima do elemento, o que permite o crescimento mesmo em período de privações.

Ressalta-se que durante a fase *lag* as microalgas já iniciam a absorção de fósforo dissolvido, entretanto esta absorção é menor devido às microalgas possuírem um estoque deste elemento, meio ASM-1, rico em fósforo.

A respeito dos resultados de fósforo dissolvido obtidos no experimento com a *Chlorella* sp, (FIGURA 23) foi verificado que no controle e nos tratamentos 25% e 50% as concentrações de fósforo dissolvido no meio decaíram a partir do T9. Já para o Tratamento 100%, este decaimento foi observado a partir do T6, sendo que no T15 houve uma rápida elevação na concentração.

No T0 até o T6 foi possível observar que não houve consumo significativo de fósforo, esse tempo coincide com o início de fase exponencial, como apresentado na Figura 24. Ressalta-se que durante a fase *lag* as microalgas já iniciam a absorção de fósforo dissolvido, entretanto esta absorção é menor devido às microalgas possuírem um estoque deste elemento, decorrente do seu cultivo em meio sintético (ASM-1), rico em fósforo.

No Controle a concentração no T0 foi de  $5,8\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $4,8\text{mg.L}^{-1}$  (redução 17%). No Tratamento 25%, a concentração no T0 foi de  $1,7\text{mg.L}^{-1}$  e no T15 foi de  $0,7\text{mg.L}^{-1}$  (redução 60%), no Tratamento 50% a concentração no T0 foi de  $3,0\text{mg.L}^{-1}$  e no



T15 foi de 2,7mg.L<sup>-1</sup> (redução de 9,8%) e no Tratamento 100% foi de 3,2mg.L<sup>-1</sup> no T0 e de 4,6mg.L<sup>-1</sup> no T15 .

Em relação à análise estatística referente ao experimento com a *Chlorella* sp, observou-se que os tratamentos 25% e 50% no T12; e os tratamentos 50% e 100% no T0, T12 e T15 apresentaram o mesmo comportamento (p-valor > 0,05).

Ao comparar os dados de crescimento e concentração de fósforo disponível no meio, verificou-se que com o passar do tempo, o crescimento aumentou e as concentrações de fósforo dissolvido no meio diminuíram, reflexo da absorção deste elemento pelas células de *Chlorella* sp. Russo (2011), ao cultivar *Chlorella vulgaris* em águas residuais tratadas durante 20 dias sem suplemento, aborda que as microalgas são capazes de absorverem grandes quantidades de fósforo, o autor constatou uma remoção próxima de 74%.

Prandini (2016), ao cultivar *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* (consórcio) em efluente sunícula sem tratamento prévio sem suplemento por 20 dias, observou uma concentração inicial de 2,3mg.L<sup>-1</sup> e após 3 dias o autor observou uma remoção quase que completamente do efluente de fósforo total. Esse fator, segundo o autor, não influenciou no crescimento das microalgas, pois as mesmas tiveram bons resultados na produção de biomassa (141,8 ± 3,5mg.L<sup>-1</sup>). Prandini (2016) destaca que esta rápida remoção de fósforo pelas microalgas ocorre, segundo a literatura, pela capacidade de assimilação de luxo (luxury uptake), onde o fósforo é assimilado e acumulado na forma de polifosfatos no interior das células microalgais. Todavia, o autor diz que o acúmulo de fósforo nas microalgas varia de acordo com as condições e espécies de microalgas, o que torna difícil estimar a assimilação de fósforo em função do crescimento microalgal.

Também Torres et al. (2014) ao analisarem a capacidade de remoção de fósforo ao cultivar *Chlorella* sp e *Scenedesmus* sp em efluente sanitário tratado sem adição de suplemento durante 14 dias, verificou uma remoção ao final do experimento em torno de 90,6% e 88,6% respectivamente.

A legislação CONAMA 357 de 17 de março de 2005 traz como valor de fósforo total para o lançamento no corpo hídrico receptor 0,05mg.L<sup>-1</sup>, para águas de classe 2, destinada ao consumo após tratamento convencional, proteção das comunidades aquáticas entre outras.

No experimento com a microalga *Scenedesmus* sp, a concentração inicial de fósforo no tratamento 100% foi de 2,6mg.L<sup>-1</sup> de fósforo dissolvido; após os 15 dias do experimento, a concentração foi 30,7% menor (média de 1,8mg.L<sup>-1</sup>). Já no experimento com a *Chlorella* sp, a concentração inicial de fósforo no tratamento 100% foi de 3,2mg.L<sup>-1</sup> de fósforo dissolvido; após os 15 dias do experimento, a concentração aumentou 43,8% (média final de 4,6mg.L<sup>-1</sup>).

Os valores finais de fósforo não estão dentro do valor preconizado pela legislação. O aumento observado nas concentrações de fósforo é decorrente da morte das células e a produtos de excreção.

Trabalhos a cerca do grau de trofia de ambientes aquáticos, como os de Nurnberg (1996) e Vollenweider & Kerekes (1980) apresentados na Tabela 9, apontam concentrações de nitrogênio e fósforo total. Ressalta-se que o lançamento de efluentes domésticos tratados em corpos d'água pode alterar o grau de trofia do ambiente, podendo acarretar problemas ambientais como o da eutrofização.

**Tabela 9** – Categorias de estado trófico baseadas na qualidade da água do sistema.

Nurnberg, 1996.				
	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico	Hipereutrófico
NT (mg.L <sup>-1</sup> )	<0,35	0,35-0,65	0,651-1,2	>1,2
PT (mg.L <sup>-1</sup> )	<0,010	0,010-0,030	0,031-0,100	>0,100
Vollenweider & Kerekes, 1980.				
	Oligotrófico	Mesotrófico	Eutrófico	Hipereutrófico
NT (mg.L <sup>-1</sup> )	0,321-1,18	0,485-1,17	0,861-4,085	-
PT (mg.L <sup>-1</sup> )	0,048-0,013	0,013-0,037	0,038-0,189	0,750-1,2

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica utilizada para o isolamento de cepas oriundas da ETE-Cacoal foi eficiente, e atualmente encontram-se oito consórcios em crescimento no Laboratório de Limnologia e Microbiologia Ambiental-LABLIM.

Os experimentos mostraram que a cepa de *Scenedesmus* sp e *Chlorella* sp apresentaram bom crescimento celular e conseqüentemente boa produção de biomassa, principalmente nos tratamentos 50% e 100%. Demonstrando assim, que os nutrientes presentes no efluente foram satisfatórios ao aumento de biomassa.

A espécie *Scenedesmus* sp foi mais eficiente na redução de fósforo dissolvido e amônia. Entretanto para o fósforo, a redução não foi suficiente para atingir o padrão de lançamento no corpo hídrico receptor para águas de classe 2 previsto na Resolução CONAMA 357/2005, que é de  $0,05\text{mg.L}^{-1}$  para fósforo total. A concentração no experimento com esgoto *in natura* no último dia de experimento foi de  $1,8\text{mg.L}^{-1}$  (valor final).

Resolução do CONAMA n° 430/2011 estabelece que o limite máximo de nitrogênio amoniacal para lançamento de efluente em corpo receptor é de  $20\text{mg.L}^{-1}$ . Ao final do experimento com efluente *in natura* para a espécies *Secendesmus* sp, a concentração final de nitrogênio amoniacal foi de  $4,14\text{mg.L}^{-1}$ .

## **RECOMENDAÇÕES**

Ressalta-se a importância da continuidade deste estudo com espécies isoladas da região amazônica, visto que, os experimentos também evidenciaram o potencial das microalgas para remoção dos nutrientes presentes em efluentes, contribuindo para a não eutrofização do corpo hídrico receptor.

## REFERÊNCIAS

ABREU, L. C. F. G. Biorremediação de fosfatos e ferro: **Utilização de *Chlorella vulgaris* imobilizada em alginato de sódio**. Porto: FCUP, 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água). Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 2013, 35p.

ALVES, L. S. **Aplicação de algas imobilizadas na remoção de nutrientes de efluentes sanitários**. Campina Grande: UEPB, 2011. Monografia (Bacharelado em Engenharia Sanitária e Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba, 2011. 42p.

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina Platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, set./out. 2008.

ANSILAGO, M.; OTTONELLI, F.; CARVALHO, E. M. Cultivo da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* em escala de bancada utilizando meio contaminado com metais pesados. **Eng Sanit Ambient**, v.21 n.3, jul/set 2016 ref. 603-608.

ANTÔNIO, P. R.; TEIXEIRA, C.; OLIVEIRA, M. C. R. de. Avaliação das diferentes condições de cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* visando o aumento da Produtividade em biomassa. In: XIX Simpósio Nacional de Bioprocessos. **Anais**. 30 jul. e 02 ago. 2013. Foz de Iguaçu, PR, Brasil.

APHA, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Ed. 19. Washington, 1995.

ARAÚJO, F.P.; PAZ, G.M.; OLIVEIRA, Y.L.; LEITE, C.H.P. Estudo da Viabilidade de Microalgas para Produção de Biodiesel. In: VII CONNEPI, 2012. **Anais**, 2012.

ARCEO, A. A. **Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata***. Tese (Doutorado em Ciências em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ. 2012.

AZEREDO, V. B. S. **Produção de biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil.** Dissertação (Mestrado em planejamento Energético). Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa em Engenharia. Rio de Janeiro, RJ. 2012.

BAIRD, C. **Química Ambiental.** Tradução: RECIO, M. A. L.R.; CARRERA, L. C. M.; 2ª ed., Porto Alegre: Bookman, 622p, 2002.

BARCELLOS, F. C.; OLIVEIRA, J. C.; CARVALHO, P. G. M. Investimento ambiental em indústrias sujas e intensivas em recursos naturais e energia. **Revista Iberoamericana de Economia Ecológica.** México. vol. 12, p. 33-50, 2009.

BAUMGÄRTNER, T. R. da S. **Cultivo e extração de óleo das microalgas *Scenedesmus sp.* e *Spirulina sp.* para a síntese de ésteres visando à produção de biodiesel.** Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Maringá. Maringá, PR. 2011.

BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology.** Cambridge University Press. 1994.

BONINI, M. A. **Cultivo Heterotrófico de *Alphanothece microscopica Nageli* e *Chlorella vulgaris* em diferentes fontes de carbono e em vinhaça.** São Carlos: UFSCar, 2012. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Ambiente), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, 2012. 96p.

BOROWITZKA, M.A. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. **J. Appl. Phycol.** v.9, p.393-401, 1997.

BRACHER,E.D.; CASSURIAGA, A.P.A.; NUNES, G.B.; HENRARD, A.A.; COSTA, J.A.V. **Perfil de crescimento das microalgas *Chlorella minutissima* e *Spirulina sp.* LEB 18 utilizando soro de leite como fonte de carbono.** In: V Simposio de Bioquímica e Biotecnologia, Londrina - PR, 2015.

BRANDALIZE, M. V. **Extração de óleo de *Chlorella pyrenoidosa* assistida em ultrassom.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2014.

BRASIL, **Decreto Lei nº 357**, de 17 de abril de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições

e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, n.53, p. 58, 18 mar. 2005, Seção 1.

BRASIL, **Decreto Lei nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamentos de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de abril de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, n. 92. 2011.

CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.19, p. 360–369, 2013.

CALLEGARI-JAQUES, S. M. Bioestatística: princípios e aplicações. **Artmed**. 264 p. Porto Alegre, RS, 2003.

CARDOSO, A. S.; VIEIRA, G. E. G.; MARQUES, A. K. O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, vol. 9, n. 4, p. 542-549, 2011.

CAVALCANTI, V.F.; LEAL, B.E.S.; PRADO, M.R.; SAKUMA, A.C.; PEGORARO, L.A.; RAMOS, L.P. Cultivo de microalga *Chlorella Vulgaris* em fotobioreator de placas planas e produção de Ésteres por transesterificação *in situ*. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**. v. 3, p. 244- 254, 2014.

CHAE, S.R., HWANG, E. J., SHIN, H.S. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photo-bioreactor. **Bioresource Technology**, v.97.p.322-329, 2006.

CETESB. **Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo**. Variáveis de Qualidade das Águas. 2008. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em: 10 de agosto de 2008.

CORRÊA, D. O. **Cultivo semicontínuo de uma microalga do gênero *Scenedesmus* em fotobiorreator tubular compacto para produção de biodiesel e caracterização do sistema de cultivo**. Monografia (em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2013.

DAY, J.G., BENSON, E.E., FLECK, R.A. **In vitro culture and conservation of microalgae: applications for aquaculture, biotechnology and environmental research**. In *Vitro Cell. Dev. Plant*, v.35, p.127-136, 1999.

DELABARY, G. S. **Avaliação do crescimento de três microalgas para a remoção de nutrientes de efluente de estação de tratamento de dejetos suínos**. Florianópolis: UFSC,

2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Departamento de Engenharia Química e de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012. 163p.

DERNER, R.B.; OSHE, S.; VILELA, M.; CARVALHO, S.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v.36, n.6, 2006.

DUA M, SINGH A, SETHUNATHAN N, JOHRI AK (2002). **Biotechnology and Bioremediation: Successes and Limitations**. *Appl Microbiol Biotechnol* 59: 143-152. Springer-Verlag (2002).

DZUMAN, M. J. **Efeito da reciclagem repetida do meio de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp para a produção de biodiesel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2013

ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. Rio de Janeiro: **Interciência**. 2ª ed. 602 p. 1998.

ESTEVES, F. A. Fundamentos de Limnologia. Rio de Janeiro: **Interciência**. 3ª ed. 826 p. 2011.

FERREIRA, R.M.; BARROS, N.O.; DUQUE-ESTRADA, C.H.; ROLAND, F. Caminhos do fósforo em ecossistemas aquáticos continentais. **Rima**. São Carlos, 2005. 532 p.

FRANCESCHINI, I.M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B.; PRAD, J. F.; RÉZIG, S.H. Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre. **ARTMED**. 2010. 332 p.

FRANCO, A.L.C.; LÔBO, I.P.; CRUZ, R.S.; TEIXEIRA, C.M.L.L.; ALMEIDA NETO, J.A.; MENEZES, R.S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Quim. Nova**. Vol. 36, No. 3, 437-448, 2013.

GALINDRO, B. M. **Análise técnica e avaliação do ciclo de vida de culturas de produção de microalgas para biodiesel**. Florianópolis: UFSC, 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, 2012. 92p.

GORHAM, P. R., MCLACHLAN, J., HAMMER, U. T., KIM, W. K., 1964. **Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb.** Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. Verh.,15: 796-804.



HAKALIN, N.L.S. **Otimização das condições de cultivo da microalga *Scenedesmus* sp para a produção de biodiesel.** Tese (Doutorado em Biologia Molecular). Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília –UNB. Brasília, DF, 2014.

HOMERO, E. B. P. **Biodiesel de Microalgas: parte 1.** Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares-INPEN. p.1-19. 2007.

LIANG, S.; LIU, X.; CHEN, F.; CHEN, Z. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiologia**, v.512, p.45-48, 2004.

LOPES, T. S. A.; SILVA, A. L. A.; KLEIN, G. R. R.; MIRANDA, C. B.; SILVA, A. O.; FERREIRA, W. B. **Efeitos da variação de ph e luminosidade no desenvolvimento da microalga *Scenedesmus* sp visando à produção de biocombustíveis.** In: XIV ENEEAmb, II Fórum Latino e I SBEA – Centro-Oeste, **Anais...** 2016.

LÚCIO, M. J. **Cultivo de microalgas *Chlorella Vulgaris* com efluente doméstico como meio de cultura alternativo.** Florianópolis: UFSC, 2013. Monografia (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental), Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, 2013. 71p.

MARQUES, J.G.; SOARES, A.T.; D'ALESSANDRO, E.B.; COSTA, D.C.; SILVA, L.F.; TAVARES, M.G.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R. **Avaliação do perfil de pigmentos na biomassa seca e no biodiesel produzido a partir das microalgas *Acutodesmus* sp. e *Chlorella* sp.** IN: Simpósio de Bioenergia e Biocombustíveis do Mercosul, 2014.

MARTINS A, DINARDI AL, FORMAGI VM, LOPES TA, BARROS RM, CONEGLIAN CMR, BRITO NN, SOBRINHO GD, TONSO S, PELEGRINI R. **Biorremediação.** In: III Fórum de Estudos Contábeis. SP Brasil. (2003).

MARTINS, B. S. **Aplicabilidade das microalgas no tratamento das águas ruças.** Bragança: IPB, 2014. Dissertação (Mestrado em Energias Renováveis e Eficiência Energética), Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Bragança, 2014. 96p.

MELO, T. B. **Remoção de nitrato e fosfato presente em efluente sintético, por meio do cultivo de *Chlorella vulgaris*, com foco preliminar para produção de biodiesel.** Londrina: UTFPR, 2014. Monografia (Bacharelado em Engenharia Ambiental), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014. 110p.

MICHELON, W. **Ficorremediação de efluentes da suinocultura: efeitos da composição do substrato e dos nutrientes (N e P) na composição química das microalgas.** Florianópolis:

UFSC, 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2015. 131p.

MIRANDA, C. T. **Efeitos da intensidade luminosa no crescimento e produção de lipídeos por *Akistrodesmus* sp (*Chlorophyceae*) visando à produção de biodiesel.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Biotecnologia Vegetal) – Pós graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, n.15, p. 2799–2815, 2006.

NEVES, F. F.; JERÊMIAS, M. L.; LOPES, R. G.; SARDÁ, A.; RÖRIG, L. R.; OLIVEIRA, A. C. **Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus* sp em efluente de bovinocultura biodigerido.** EdUFPR. Curitiba, PR. 2013.

NOVAES JUNIOR, S. O.; MELEGARI JUNIOR, S. N.; SEBASTIEN, N. Y.; COLDEBELLA, P. F.; TREVISAN, E.; AGUIAR, D. R. Potencial de crescimento de *Chlorella vulgaris* em efluentes suínos para produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 2, p. 23-33, 2013.

NÜRNBERG, G. 1996. **Trophic state of clear and colored, soft- and hardwater lakes with special consideration of nutrients, anoxia, phytoplankton and fish.** Lake and Reservoir Management, 12: 432-447, 1996.

OLIVEIRA, A. C. **Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus* sp em efluente de bovinocultura biodigerido.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais). Ed UFPR. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2013.

PAIVA, M.; BARBOSA, P. S.; AMORIM, M. C. C. Remoção de nutrientes de efluentes domésticos utilizando a espécie de microalga *Desmodesmus subspicatus*. In: **IV Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental.** Cruz das Almas, BA, 2016.

PERAZOLLI, S.; STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; NUNES, E. O.; Da SILVA, M. L. B. Biogas production from microalga biomass. In: **Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais**, 3, 2013, São Pedro, SP: SBERA, 2013.

PIMENTA, S. F. P. **Comparação entre a biorremediação de água natural e água residual utilizando *Chlorella vulgaris*.** Porto: FC, 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água), Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 2012.

PRANDINI, J. M. **Remoção de nutrientes de efluente suinícola acoplado à purificação de biogás por microalgas nativas de *Scenedesmus* spp. e *Chlorella* spp.** Florianópolis: UFSC, 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

RÊGO, F.S.; VIEIRA, G.E.G.; MARQUES, A.K.. Obtenção de biodiesel a partir de microalgas coletadas em uma lagoa facultativa localizada na ETE da Vila União Palmas - TO. In: **VII Seminário de Iniciação Científica**. Vol. 3. 2011. Universidade Federal do Tocantins. Palmas, 2011.

RODRIGUES, J. B. R.; BELLI FILHO, P. Eficiência da microalga *Chlorella minutissima* no tratamento de resíduos de suinocultura enriquecido com uréia. **Bioternas**: 7-26p. Florianópolis, SC. 2004.

ROSSI, R. A. **Seleção de microalgas dos gêneros *Desmodesmus* e *Scenedesmus* produtoras de lipídeos: otimização do cultivo e aplicação do efluente doméstico de reator UASB como substrato alternativo à produção de biodiesel.** Tese (Doutorado em Ciências), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015. 139p.

ROTERMUND, S. R. V. Cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. em efluente de ribeira. In: **XXVII Salão de iniciação científica da UFRGS**. Porto Alegre, RS, 2015.

RUSSO, D. A. M. T. **Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de fotoperíodo e temperatura.** Dissertação (Mestre em Energia e Bioenergia), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2011. 11p.

SCHMITZ MAGRO, C.D.; COLLA, L.M. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC – UPF**. vol.4 (1). p.48-60. 2012.

SILVA, D. A. **Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biodiesel.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais). Ed UFPR. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR. 2014.

SILVA, F. **Biorremoxão de nitrogênio, fósforo e metais pesados (Fe, Mn, Cu, Zn) do efluente hidropônico, através do uso de *Chlorella vulgaris*.** Dissertação (Mestre em Agroecossistemas), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006. 87p.

SILVA, J. W. A. **Cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* em efluentes aquícolas e sua influencia na concentracao lipídica.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca e

Recursos Pesqueiros), Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, 2013. 48p.

SILVA, N. F. P. **Crescimento de Microalgas em Águas Residuais: Produção de Biomassa e Remoção de Nutrientes**. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente), Universidade do Porto, 2014. 86p.

SILVA, S. A. P. **Biorremediação em águas residuais: remoção de fosfatos utilizando microalgas *Chlorella vulgaris* imobilizadas em meio de alginato de sódio**. Dissertação (Mestrado em Hidrobiologia), Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 2007.

SOUSA, C.V. **Microalgas: do Tratamento de Efluentes para a Biorrefinaria**. Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia). Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. 2014.

SOUZA, G. S. **Avaliação da bacia hidrográfica do Rio Paraguaçu utilizando análise multivariada**. Salvador : UFBA, 2010. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade Federal da Bahia, 2010, 11p.

SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. v. 101, p. 87-96, 2006.

TAHER, D. M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigeridos**. Curitiba: UFP, 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013. 107p.

TANGO, M. D. **Cultivo de microalgas em efluentes da indústria de beneficiamento de carnes em fotobiorreator do tipo coluna de bolhas**. Viçosa: UFV, 2015. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Civil). Universidade Federal de Viçosa, 2015. 102p.

TORRES, H.S.J.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. Isolamento, sobrevivência e caracterização da biomassa de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto sanitário visando a produção de biocombustíveis. In: **IX Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental**. Porto Alegre, PR. 2014.

TREVISAN, E.; BRANCO, K. B. Z. F.; MORO, P.; ARROYO, P. A. Cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* em efluente doméstico para a produção de lipídeos. In: **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Florianópolis, SC. 2014.

TREVISAN, E.; LEAL NETO, M.; MORO, P.; HOSHINO, S. O.; ARROYO, P. A. Avaliação do pH em cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* In: VIII EPCC–Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar. **Anais...** Maringá, PR. 2013.

VIANA, C. R. A.; TREVISAN, E.; ARROYO, P.A.; CAMACHO, F. P.; COLDEBELLA, P. F.; SCANDELAR, A. P. J. Avaliação do cultivo de microalga *Chlorella vulgaris* em efluente doméstico. In: **II Simpósio de Bioenergia e Biocombustíveis da América do Sul**. Foz do Iguaçu, PR. 25 e 26 de setembro de 2014.

VIDAL, I. C. A. **Estudo da potencialidade de produção de biocombustíveis entre as microalgas *Chlorella sp.* e *Scenedesmus sp.* cultivadas em águas residuárias**. Monografia (Bacharelado em Engenharia Sanitária e Ambiental). Centro de Ciências e Tecnologia. Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, PA, 2016.

VIDAL JUNIOR, E.A. **Obtenção de óleo extraído da Microalga *Chlorella sp*** Monografia (Bacharel em Engenharia Química). Escola de Engenharia de Lorena – EEL. Universidade de São Paulo - USP. Lorena, SP. 2014.

VIEIRA, T. Q; FERREIRA, W. B.; ARAÚJO, H. W. C.; CUNHA, T. H. C. S.; VIDAL, I. C.A.; MELO, D. J. N. Estudo da viabilidade do uso de resíduos líquidos no cultivo da microalga *Chlorella sp* visando a produção de biocombustíveis. **Revista Monografias Ambientais** - REMOA v.13, n.4, p.3477-3490, set-dez. 2014.

ZHOU, W, 2014. **Potential Applications of Microalgae in Wastewater Treatments**, Recent Advances in Microalgal Biotechnology. Center for Biorefining, Bioproducts and Biosystems Engineering Department, University of Minnesota, USA, 2014.