

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

DENISE SCHUTZ

**ESTUDO DA REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONÍACAL EM EFLUENTE
ATRAVÉS DO MANEJO COM MICROALGAS**

Projeto Tecnológico

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

DENISE SCHUTZ

**ESTUDO DA REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONÍACAL EM EFLUENTE
ATRAVÉS DO MANEJO COM MICROALGAS**

Projeto Tecnológico

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Orientadora: Profa. Dra. Roberta da Silva Bussamara Rodrigues

PORTO ALEGRE

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Schutz, Denise
Estudo da remoção de nitrogênio amoniacal em
efluente através do manejo com microalgas / Denise
Schutz. -- 2022.
42 f.
Orientadora: Roberta da Silva Bussamara Rodrigues.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Curso de Química Industrial, Porto Alegre,
BR-RS, 2022.

1. Efluente. 2. Microalga. 3. Raphidocelis
subcapitata. 4. Nitrogênio amoniacal. I. Rodrigues,
Roberta da Silva Bussamara, orient. II. Título.

RESUMO

Atualmente, na Lagoa de Aeração da planta de tratamento de efluentes do Complexo Automotivo da General Motors do Brasil, em Gravataí- RS, utiliza-se 8 aeradores de 20 CV, gerando um consumo energético elevado. Devido a esta problemática este trabalho objetivou usar a microalga *Raphidocelis subcapitata*, no final do tratamento, visando à redução do nitrogênio amoniacal na Lagoa de Polimento e conseqüentemente a diminuição do número de aeradores, usados na Lagoa de Aeração, minimizando os custos de energia, tornando o processo mais sustentável, além de contribuir com o meio ambiente. Para isto, uma amostra de efluente da Lagoa de Polimento foi coletada, filtrada e teve seu pH ajustado em três faixas distintas, para posterior execução dos ensaios com a microalga *Raphidocelis subcapitata*. A microalga foi inoculada nas amostras de efluentes e as culturas foram incubadas por cinco dias em temperatura, luminosidade e agitação controladas. Após a incubação das amostras, foram realizadas análises do crescimento da biomassa microalgal e da quantidade de nitrogênio amoniacal. Como diferentes faixas de pH foram testadas na incubação das amostras com a microalga, foi possível fazer correlações verificando o melhor pH de trabalho para esta cepa. Pode-se observar que as três condições testadas proporcionaram uma redução significativa na quantidade de nitrogênio amoniacal na amostra de efluente analisada. Embora a microalga tenha apresentado crescimento semelhante nas três condições testadas, a amostra incubada em pH 6,40, apresentou um percentual médio de redução de nitrogênio amoniacal de 63,87%, sendo relativamente maior que os percentuais de redução verificados nas amostras em pH 7,00, e em pH 7,40 (61,61% e 52,57%, respectivamente). Sugere-se que o nitrogênio pode ter sido assimilado por microalgas na forma de nitrato ou amônia, essas formas de nitrogênio podem ser utilizadas por microrganismos na síntese de compostos celulares, na produção de proteínas e outros compostos contendo nitrogênio. No contexto ambiental, a utilização de microalgas na fase final do tratamento de efluentes mostrou grande potencial para ser utilizada como uma alternativa de baixo custo e alta eficiência para redução dos teores de nitrogênio em efluentes industriais.

Palavras-chave: Efluente, microalga, *Raphidocelis subcapitata*, redução de nitrogênio.

ABSTRACT

Currently, in the Lagoa de Aeração of the effluent treatment plant of the General Motors do Brazil Automotive Complex, in Gravataí-RS, 8 aerators of 20 hp are used generating high energy consumption. Because of this problem, the goal of this work was to use the microalgae *Raphidocelis subcapitata* at the end of the waste treatment, aiming at reducing the ammoniacal nitrogen in the Polishing Lagoon and consequently reducing the number of aerators used in the Aeration Lagoon, minimizing energy costs, making the process more sustainable, in addition to contributing to the environment. For this, a sample of effluent from washing lagoon was collected, filtered and had its pH adjusted in three different ranges, for later execution of the tests with the microalgae *Raphidocelis subcapitata*. The microalgae was inoculated in the effluent samples and the cultures were incubated for five days at controlled temperature, luminosity and agitation. After the incubation of the samples, analyzes of the growth of microalgal biomass and the amount of ammoniacal nitrogen were performed. As different pH ranges were tested in the incubation of the samples with the microalgae, it was possible to make correlations verifying the best working pH for this strain. It can be observed that the three conditions tested provided a significant reduction in the amount of ammoniacal nitrogen in the analyzed effluent sample. Although the microalgae showed similar growth in the three conditions tested, the sample incubated at pH 6.40, showed an average percentage of ammoniacal nitrogen reduction of 63.87%, being relatively greater than the percentages of reduction verified in the samples at pH 7.00, and at pH 7.40 (61.61% and 52.57%, respectively). It suggested that nitrogen may have been assimilated by microalgae in the form of nitrate or ammonia. These forms of nitrogen can be used by microorganisms in the synthesis of cellular compounds, in the production of proteins and other nitrogen-containing compounds. In the environmental context, the use of microalgae in the final phase of effluent treatment showed a great potential to be use as a low-cost and high-efficiency alternative to reduce nitrogen levels in industrial effluents.

Keywords: Effluent, microalgae, *Raphidocelis subcapitata*, nitrogen reduction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cultura de <i>Raphidocelis subcapitata</i> (10x escala 10 μm).	18
Figura 2 - Lagoas da planta de tratamento de efluentes da General Motors do Brasil – Gravataí, RS.....	21
Figura 3 - Amostra do efluente proveniente da Lagoa de Polimento da planta de tratamento de efluentes do complexo automotivo da General Motora do Brasil, em Gravataí - RS.	26
Figura 4 - Filtração do efluente com membrana de microfibras de vidro com gramatura 70 g/m ² (figura à esquerda) e filtração do efluente com a membrana com gramatura 85 g/m ² (figura à direita).	27
Figura 5 - Meios filtrantes com o máximo de retenção microrganismos em especial algas presentes no efluente.	27
Figura 6 - Pré-inóculo contendo $61,4 \times 10^4$ células de microalga.....	29
Figura 7 - Amostra do efluente da Lagoa de Polimento filtrada e separada em triplicata.....	29
Figura 8 - Preparo dos materiais para inoculação da microalga nas amostras de efluentes testadas.	30
Figura 9 - Amostras no início (figura à esquerda) e após 5 dias (figura à direita) de incubação, na mesa agitadora orbital.....	31
Figura 10 - Curva de calibração do crescimento da microalga, no eixo x tem-se a quantidade de células contadas em câmara de Neubauer e no eixo y tem-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro.	32
Figura 11 - Análise do crescimento da microalga, em diferentes pHs, nas amostras de efluente e nos controles, através da leitura da absorbância a 750nm em espectrofotômetro.	32
Figura 12 - Custo energético (R\$) x concentração de nitrogênio amoniacal (ppm)...	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos utilizados para o preparo do meio Oligo.....	28
Tabela 2 - Análise do crescimento da microalga nas amostras testadas a partir da leitura da absorbância a 750nm em espectrofotômetro.....	37
Tabela 3 - Consumo do nitrogênio amoniacal do efluente, após cultivo da microalga em diferentes pHs.	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
1.1.1 Microalgas	11
1.1.1.1 Fatores que influenciam a constituição das microalgas	13
1.1.2 Suplementação do meio de cultivo para obtenção da biomassa	14
1.1.3 Tipos de cultivos utilizados para crescimento de microalgas	16
1.1.4 Microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i>	17
1.1.5 Efluente industrial como meio alternativo	18
1.1.5.1 Constituição do efluente da Lagoa de Polimento	20
1.1.6 Fatores que influenciam a produção de biomassa	21
1.1.7 Aplicações	23
2. OBJETIVO DO TRABALHO	25
3. METODOLOGIA	26
3.1 COLETA E PREPARO DE EFLUENTE DA LAGOA DE POLIMENTO DA PLANTA DE TRATAMENTO DE EFLUENTES DO COMPLEXO AUTOMOTIVO DA GENERAL MOTORA DO BRASIL, EM GRAVATAÍ - RS	26
3.2 EFEITO DA APLICAÇÃO DA MICROALGA <i>RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA</i> NA REDUÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIACAL DO EFLUENTE, EM DIFERENTES pHs	27
3.2.1 Cultivo da microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i>	27
3.2.2 Cultivo da microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i>, em diferentes pHs, no efluente da Lagoa de Polimento	29
3.2.3 Análise do crescimento microbiano	31
3.2.4 Análise de nitrogênio amoniacal no efluente	32
3.2.4.1 Quantificação do nitrogênio amoniacal.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
4.1 ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DO PROCESSO.....	38

5. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por produtos e serviços tem elevado drasticamente a atividade industrial, gerando cada vez mais esses resíduos, cuja composição pode variar de acordo com sua origem, podendo conter grande quantidade de matéria orgânica ou ainda apresentar altas concentrações de metais tóxicos, representando um grave problema para o meio ambiente. Dentre os compostos contaminantes que podem ser dispersos nos recursos hídricos cabe destacar a amônia (NH_3) e o nitrito (NO_2). Os efluentes industriais apresentam, assim como os efluentes domésticos, componentes com características bioacumulativas que são tóxicas podendo causar danos ao meio ambiente e aos seres humanos. A toxicidade está diretamente ligada com a concentração desses componentes e o tempo de exposição em que os seres vivos são expostos. No âmbito industrial, existe uma demanda crescente por técnicas de tratamento de efluentes que sejam capazes de reduzir os custos com operação e equipamentos. Métodos convencionais de tratamento de efluentes além de terem custos elevados, muitas vezes, são incapazes de remover concentrações diminutas de metais pesados e da carga de nutrientes. Pesquisas envolvendo o uso de microalgas na redução de poluentes estão sendo aplicadas em diversas áreas ambientais agregando valor aos compostos gerados e/ou sendo inseridos em um processo já existente. A simplicidade na estrutura das microalgas permite seu rápido crescimento despertando o interesse por aplicações biotecnológicas. Suas exigências nutricionais não são elevadas e o crescimento é rápido na presença de luz. A sua constituição bioquímica viabiliza o processo de biorremediação através da remoção de nutrientes do efluente para o seu crescimento e para a sua propagação. No contexto ambiental, o uso de microalgas na fase final do tratamento de efluentes se apresenta como uma alternativa de baixo custo e alta eficiência, uma vez que esses organismos são capazes de diminuir os níveis de nitrogênio amoniacal e possuem a capacidade de retenção e imobilização de metais do material a ser tratado.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 Microalgas

As principais fontes de energias fósseis são: o petróleo, gás natural e o carvão mineral. A exploração desses tipos de fontes energéticas demonstra um baixo desenvolvimento socioeconômico-demográfico sustentável das regiões que fazem esse tipo extrativismo. A extração em reservatórios naturais de recursos não renováveis, principalmente petrolíferos, progride geometricamente; revertê-la artificialmente é praticamente impossível. Microalgas seriam, portanto, alternativa perspicaz à produção e resolução parcial de crises energéticas (GUMBI *et al.*, 2017).

O desenvolvimento e crescimento das microalgas podem ser de forma autotrófica, heterotrófica e/ou mixotróficamente, onde a produtividade e a qualidade de biomassa são influenciadas por contaminantes microbianos, CO₂, fotoperíodo, minerais, O₂, pH, radiação solar, salinidade e temperatura (VIDOTTI, 2015).

As microalgas se reproduzem em condições experimentais, em meios de cultivos. Esses consistem da associação qualitativa e quantitativa de substâncias que fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento de microrganismos fora do seu meio natural. Esses meios devem suprir todas as necessidades nutritivas do microrganismo para síntese do material celular e a produção de metabólitos de interesse industrial (SINGH; SINGH, 2014; GHIMIRE *et al.*, 2017; WONG *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2017; DENG *et al.*, 2018).

Há a possibilidade de cultivo de microalgas em lagoas e/ou fotobioreatores para formação de produtos de alto valor agregado que, frequentemente, superam culturas de canola, coco, palma, pinhão-manso e soja, em termos de produtividade. Todavia, consomem significantes quantidades de água-doce e fertilizantes sintéticos. Microalgas são elementos de um grupo muito heterogêneo de organismos, predominantemente aquáticos e, geralmente, microscópicos unicelulares, procariontes ou eucariontes, que podem formar colônias, com pouca ou nenhuma diferenciação celular além de serem dotados de pigmentos, responsáveis por coloração variada e por metabolismo fotoautotrófico (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

As microalgas podem ser cultivadas em tanques abertos ou em fotobiorreatores com luz solar ou artificial e adição de nutrientes, porém, usualmente,

o cultivo de microalgas ocorre em tanques abertos com pequena profundidade ou ainda em tanques de formato alongado visando assegurar adequada incidência de luz solar (BERTOLDI; SANT'ANNA; OLIVEIRA, 2008).

Esses tanques podem ser de plástico, concreto, fibra de vidro, alvenaria ou laminados, sendo dada atenção especial a fatores físico-químicos como intensidade de luz, temperatura, pH, nutrientes e agitação pois a composição bioquímica da biomassa bem como a taxa de crescimento das microalgas são determinadas por estes fatores em conjunto com a natureza da espécie algal (MEINERZ, 2007; MOURA JUNIOR *et al.*, 2006).

As Microalgas pertencem a um grupo para filético composto tanto por cianobactérias que são procariotos, como por protozoários fotossintetizantes unicelulares que são eucariotos. As microalgas ou algas unicelulares são microrganismos encontrados em corpos aquáticos em todo o globo terrestre; podem ainda estar presentes em folhas ou caules de vegetais além de poder formar, em simbiose com fungos, os líquens, que são os principais integrantes do fito plâncton, podendo ser encontrados de forma individualizada ou em colônias capazes de alcançar grandes dimensões. As microalgas são consideradas fundamentais para a manutenção da vida na Terra uma vez que participam juntos das macrófitas aquáticas, da produção de maior parte do O₂ da atmosfera (VIDOTTI, 2015).

A simplicidade na estrutura desses organismos permite seu rápido crescimento despertando o interesse por aplicações biotecnológicas. Suas exigências nutricionais não são elevadas e o crescimento é rápido na presença de luz. Desta forma é possível a sua produção em biorreatores abertos e com água de seu ambiente natural acrescida de antimicrobianos para facilitar o crescimento algal, permitindo uma produção economicamente competitiva. Como vantagem ecológica tem a obtenção de créditos de carbono. Esses organismos fazem fotoconversão de CO₂ para a produção de matéria orgânica (CHAUDHARY *et al.*, 2014; KANDILIAN *et al.*, 2014; GHIMIRE *et al.*, 2017).

No contexto ambiental, o uso de microalgas na fase final do tratamento de efluentes se apresenta como uma alternativa de baixo custo e alta eficiência uma vez que esses organismos são capazes de diminuir os níveis de N e P do material tratado. Além de sua capacidade de metabolizar metais pesados e hormônios que são encontrados nos efluentes em geral, podem metabolizar subprodutos da

bioacumulação. Altos níveis de N e P nos efluentes, quando lançados num corpo de água, podem induzir a eutrofização, processo onde existe uma alta densidade de organismos que geralmente diminui consideravelmente a quantidade de O₂ dissolvido, levando a mortandade de peixes (VIDOTTI, 2015).

A coloração característica dos flamingos e salmões se deve as suas dietas compostas de microalgas. A capacidade nutritiva desses organismos se dá por alta concentração de material orgânico de valor nutricional, por isso, outra aplicação desses organismos é na indústria alimentícia. Estão presentes principalmente na produção de alimentos probióticos, pigmentos naturais, suplementos alimentares e produção de ração para animais (VIDOTTI, 2015).

As microalgas possuem grande importância, tanto biológica, quanto ecológica e econômica. Em termos biológicos, o valor deste grupo de organismos reside na estruturação da atual atmosfera terrestre, possibilitando a vida sobre a superfície da Terra dos seres vivos aeróbicos. Ao passo que o fato de constituírem-se em produtores primários atribui às algas a importância ecológica na medida em que estas sustentam a vida nos mares e oceanos desempenhando, assim, um papel ecológico fundamental na manutenção destes ecossistemas. Já a importância econômica é determinada pela diversidade de usos das algas em vários países no mundo, desde a indústria alimentícia à de medicamentos, de imunostimulantes a biocombustíveis, da cosmética à agricultura (VIDOTTI, 2004).

O cultivo de microalgas tem sido realizado objetivando a produção de biomassa com vistas à elaboração de alimentos e também para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial. Dentre estes compostos, destacam-se ácidos graxos poli-insaturados, carotenoides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais, sendo que, desta forma, as microalgas apresentam potencial de uso no desenvolvimento de alimentos funcionais, por suas propriedades específicas a exemplo da elevada atividade antioxidante (ANTONIO, 2014; ZHAO; ZHANG; CUI, 2015).

1.1.1.1 Fatores que influenciam a constituição das microalgas

Apesar da grande influência dos diversos fatores ambientais (temperatura, pH, iluminação, foto período, nutrientes, CO₂), a composição das microalgas é, fundamentalmente: carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, sendo que

as proporções variam amplamente entre as espécies e de acordo com as condições de cultivo (VIDOTTI, 2015).

De acordo com (VASUDEVAN; BRIGGS, 2008), o mecanismo de conversão de energia solar em lipídeos pelo metabolismo celular dentro das microalgas ocorre por meio da fotossíntese que se inicia com a captura de um fóton por um elétron em um anel conjugado de ligações duplas no interior de uma molécula pigmento, causando uma excitação. O nível de energia dessa excitação determina o comprimento de onda da luz que pode ser coletada pelos pigmentos nos organismos fotossintéticos por meio de proteínas complexas especializadas na colheita de luz. As microalgas eucarióticas possuem uma organela presente nos organismos fotossintetizantes conhecida como cloroplasto, que possui o pigmento clorofila responsável pela sua cor verde. É no cloroplasto que ocorre a fotossíntese, pois este possui RNA, DNA e ribossomos, podendo, assim, sintetizar proteínas. Dentro dos cloroplastos há um sistema de membranas, denominado tilacóides, onde ocorrem as reações de luz da fotossíntese.

A fotossíntese ocorre em etapas complementares: reações luminosas e reações de carboxilação. Na primeira ocorre a conversão de energia luminosa ou física em ATP (adenosina trifosfato) e NADP (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida), substratos de reações de carboxilação, redução e regeneração de Ciclo de Calvin-Benson, por excitação eletrônica de fotólise de água. Nas reações de carboxilação, a pentose, RuBP (1,5-ribulose-bisfosfato), associa-se ao CO₂ e produz 3-PGA (3 ácido fosfoglicérico), precursor de gliceraldeído-3-fosfato e, invariavelmente, glicerol. A compreensão de ciclo fotoperiódico é indispensável ao planejamento do cultivo de microalgas (CHAUDHARY *et al.*, 2014; KANDILIAN *et al.*, 2014; GHIMIRE *et al.*, 2017).

1.1.2 Suplementação do meio de cultivo para obtenção da biomassa

Para qualquer espécie microalgal, os fatores nutricionais são de grande importância para o seu pleno desenvolvimento, o qual necessita de macronutrientes essenciais, micronutrientes e vitaminas (GUILLARD, 1975). De acordo com Lourenço (2006), os macronutrientes desempenham funções de grande importância nas microalgas, tais como as funções estruturais, metabólicas e de troca de energia.

As microalgas são microrganismos fotossintetizantes que requerem carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O), hidrogênio (H) e fósforo (P), além de cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e potássio (K) para o seu desenvolvimento. Os micronutrientes que geralmente são importantes para o desenvolvimento das microalgas são: ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e cobalto (Co) (LOURENÇO, 2006).

Em relação à concentração de CO₂, o mesmo está presente no ar atmosférico em baixa concentração, o que pode limitar o crescimento rápido, uma vez que o carbono corresponde à cerca de 45% da biomassa das microalgas. Portanto, para que elevadas taxas de crescimento possam ser alcançadas, esse carbono geralmente necessita ser suplementado (ANTONIO, 2014; ZHAO; ZHANG; CUI, 2015), ao analisarem os efeitos da concentração de CO₂ no rendimento em biomassa da *Chlorella sp*, cultivada em reatores do tipo colunas de bolhas, chegaram à conclusão de que o aumento na concentração de CO₂ (quando esta variou de 10 a 20 ppm) exerceu efeito negativo no crescimento microalgal.

Paralelamente, Antonio (2014), ao avaliar o efeito do CO₂ na produção lipídica de *Chlorella vulgaris*, constatou que a máxima produtividade em lipídios totais foi alcançada quando se utilizou 10% de CO₂. No entanto, a influência deste parâmetro (teor de CO₂ na corrente gasosa) vai depender fortemente da espécie microalgal, tanto no que diz respeito à produtividade em biomassa quanto ao teor de lipídeos e à composição em ácidos graxos (CHIU *et al.*, 2015).

Quando em condição mixotrófica ou heterotrófica, o glicerol serve de fonte de carbono para as microalgas, dando continuidade ao crescimento, mesmo no escuro. Tendo em vista que o glicerol é um resíduo da transesterificação de lipídios em biodiesel, a utilização deste composto pode ser uma forma de reduzir custo para o cultivo das microalgas (DANTAS, 2006).

A utilização de fosfato no meio de cultivo também é importante, visto que a escassez deste nutriente pode afetar o seu crescimento da microalga, reduzindo a síntese e regeneração de substratos no ciclo de Calvin-Benson e, conseqüentemente, reduzindo a capacidade de absorção de luz e fixação de gás carbônico. A ausência de fósforo reduz a quantidade de proteínas e clorofila e aumenta a quantidade de carboidratos na célula. Além disso, fosfato é importante para constituição de DNA, RNA e proteínas da célula (BAIEE, 2016).

Quanto ao nitrogênio, de acordo com dados da literatura, se o nitrogênio é abundante nos cultivos, verifica-se a tendência de aumento nas concentrações proteicas e de clorofila nas células (LOURENÇO, 2006); por outro lado, o nitrato em baixas concentrações pode gerar o acúmulo de lipídios em até 70%. A amônia está presente em solução na forma de íon amônio (NH_4^+) e na forma livre, não ionizada (NH_3). Ainda que ocorra o processo de volatilização da amônia livre para a atmosfera, alguns autores acreditam que esta é insignificante se comparada com outros mecanismos de remoção do nitrogênio, tais como a nitrificação/desnitrificação e a sedimentação (VON SPERLING *et al.*, 2005).

O nitrogênio assimilado pelas microalgas na forma de nitrato e amônia é destinado para a síntese de compostos celulares, produção de proteínas e outros compostos que contém nitrogênio. No entanto, a assimilação destes dependerá de outros fatores, tais como temperatura, carga orgânica, tempo de retenção hidráulica e radiação solar (MONTEGGIA; TESSELE, 2001).

Becker (1988) mostrou os efeitos dos diferentes regimes de nitrogênio nos parâmetros de crescimento e componentes das microalgas, para duas clorofíceas (*Scenedesmus obliquus* e *Chorella vulgaris*) e para quatro cianobactérias (*Spirulina platensis*, *Anacystis nidulans*, *Microcystis aeruginosa* e *Oscillatoria rubescens*). Para todas as algas estudadas o aumento dos níveis de nitrogênio conduziu a um aumento da biomassa, do conteúdo de proteínas e de clorofila. Em baixos níveis de nitrogênio, as clorofíceas apresentaram níveis de lipídeos totais em torno de 45%.

De-Bashan, Moreno e Hernandez (2001), encontraram altas taxas de eliminação de amônia após estudarem diferentes espécies de *Chlorellas* sob diferentes concentrações de efluente, como: NaCl; H_2O ; CaCl_2 ; MgSO_4 ; K_2HPO_4 ; KH_2PO_4 ; Na_2HPO_4 e NH_4 . Assim, eles puderam concluir o grande potencial das microalgas no tratamento de águas residuais contendo amônia e fósforo como principais nutrientes. Além disso, observaram o crescimento de bactérias promotoras de crescimento de microalgas.

1.1.3 Tipos de cultivos utilizados para crescimento de microalgas

As condições de cultivo dependem do tipo de metabolismo da microalga que, de acordo com a literatura, podem ser de três tipos principais de metabolismo: autotrófico, heterotrófico e mixotrófico (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2010).

No crescimento autotrófico, a microalga utiliza a luz como fonte única de energia que é convertida em energia química por meio de reações fotossintéticas. A produção destes organismos autotróficos é realizada em sistemas iluminados, tais como os fotobiorreatores (sistemas fechados) ou as lagoas fotossintéticas (sistemas abertos) e, para que a taxa de crescimento e a produtividade sejam mais elevadas, as microalgas necessitam de condições de cultivo adequadas (PEREIRA *et al.*, 2012).

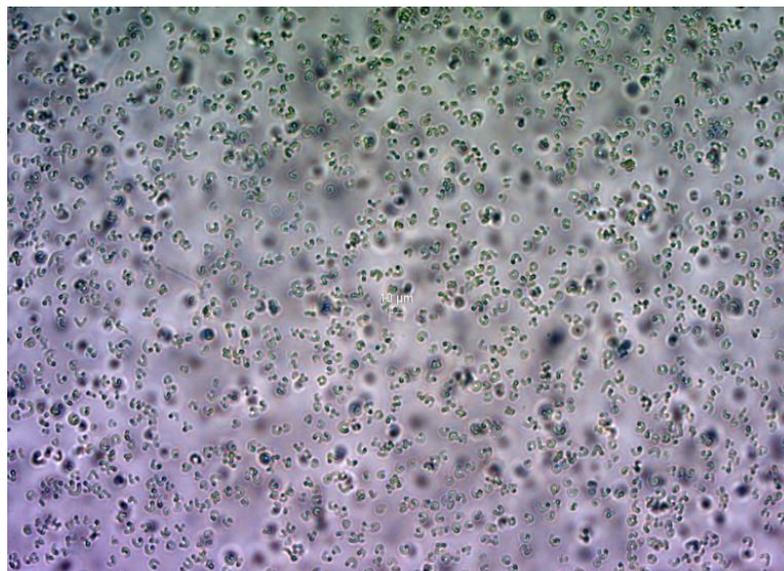
No crescimento heterotrófico, as microalgas utilizam apenas compostos orgânicos dissolvidos como fonte de carbono e energia. Ou seja, o crescimento se dá na ausência de luz e presença de fontes de carbono. O crescimento mixotrófico é uma combinação de metabolismo autotrófica e heterotrófica. Ou seja, os microrganismos mixotróficos conseguem simultaneamente realizar a fotossíntese e consumir carbono inorgânico e orgânico, o que permite aumentar a sua produtividade (PEREIRA *et al.*, 2012).

1.1.4 Microalga *Raphidocelis subcapitata*

Anteriormente conhecida como *Selenastrum capricornutum* e *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Raphidocelis subcapitata* é uma microalga de aparência curvada e torcida. São unicelulares e possuem comprimento entre 8 e 14 μm , e uma largura entre 2 e 3 μm . Pertence à classe das Clorófitas, uma das classes de algas verdes. Encontra-se geralmente em águas doces, é uma alga verde unicelular, com um único cloroplasto longo e de cor verde brilhante. Esta cor brilhante deve-se essencialmente à presença de clorofila. Reproduz-se assexuadamente através de auto-esporos. Outras características que tornam a alga um organismo-teste ideal, é o seu ciclo de vida curto e a facilidade de crescer em condições laboratoriais. O cultivo desta alga exige certas condições ambientais de luz, oxigênio, temperatura e disponibilidade de nutrientes. Meios pobres em oxigênio, e a ausência de luz, limitam o desenvolvimento desta alga. As microalgas são componentes importantes na cadeia alimentar do ambiente aquático, sendo responsável não somente pela produção primária, mas também pelo estabelecimento de importantes relações bióticas. Além disso, seu ciclo de vida curto, altas taxas de crescimento, facilidade para manter as culturas e sua capacidade de crescer em meios sintéticos bem definidos, faz deste o organismo um

dos mais importantes para avaliação da toxicidade aquática. Devida a sua sensibilidade aos testes de toxicidade, mostra os efeitos tóxicos causado em ecossistemas por substâncias químicas nele presentes, sendo importantes nas avaliações de impacto ambiental (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

Figura 1 - Cultura de *Raphidocelis subcapitata* (10x escala 10 µm).



Fonte: Islabão.C, CORSAN/SITEL

1.1.5 Efluente industrial como meio alternativo

Um dos problemas graves para a humanidade será a escassez de recursos de água potável no futuro. O despejo de efluentes não tratados em água doce é um fator agravante para este problema, pois existe um alto índice de produtos químicos tóxicos, como amônia (NH_3) e nitrito (NO_2). Estudos apontam o potencial de microalgas verdes para remover o excesso desses contaminantes, devido à sua alta capacidade de absorção de nutrientes, bem como a alta produção de biomassa. Isso abre perspectivas animadoras para sua aplicação em processos de tratamento de efluentes (HEIDARI, 2011; RAMOS, PIZARRO, 2018; HESNI *et al.*, 2020).

A possibilidade de utilizar meios de cultivos alternativos surgiu devido aos custos elevados com reagentes químicos necessários para o crescimento das microalgas, tido como um dos maiores problemas do cultivo, por representarem de 40 a 60% de seu custo total (SIPAÚBA-TAVARES, 1995).

Dentre os meios de cultura alternativos utilizados para a produção de biomassa de microalgas destacam-se o esgoto doméstico esterilizado, os efluentes

de biodigestores, o lodo digerido, os despejos industriais purificados, a vinhaça de cana-de-açúcar, as águas residuárias da produção de azeite de oliva e os resíduos da suinocultura, dentre outros (BERTOLDI; SANT'ANNA; OLIVEIRA, 2008).

Efluentes são nutricionalmente autossuficientes para promover o crescimento e desenvolvimento de microalgas. A produção industrial de 1 kg de biomassa algácea demanda 3,725 kg de água-doce e expressivo aporte de fertilizantes sintéticos (especialmente N e P), que podem ser contaminantes e poluentes. O reaproveitamento de efluente agrícola, agroindustrial ou urbano, a fim de substituí-los e garantir sustentabilidade à ficologia, seria, portanto, oportuno. Descartar os efluentes negligentemente, ao invés de reutilizá-los ou recicla-los, implica em impactos a ecossistemas naturais (eutrofização de corpos hídricos, poluição atmosférica, salinização de ambientes de produção agropecuária, etc...). Ricos em elementos minerais e orgânicos, estes efluentes possibilitariam cultivo microalgal sustentável, que os reaproveitariam, transformando-os, então, em matéria-prima tecnicamente aplicável à transesterificação de biodiesel e biorrefino de alimentos funcionais e químicos (DENG *et al.*, 2018).

A avaliação do ciclo de vida de uma planta industrial de microalga comprova que a substituição de água-doce por efluente reduz, sensivelmente, o custo total de produção de biomassa. A biodiversidade de microalgas é extensa. Há, entretanto, espécies sensíveis a efluente com elevada demanda bioquímica de oxigênio e carga mineral (DENG *et al.*, 2018).

O termo efluente industrial é utilizado para designar qualquer resíduo líquido resultante dos processos industriais, podendo ser gerado na planta ou então usado como insumo. Além deste efluente, podemos citar o efluente sanitário gerado nas indústrias, mesma classe da qual o efluente doméstico pertence. A crescente demanda por produtos e serviços tem elevado drasticamente a atividade industrial, gerando cada vez mais esses resíduos, cuja composição pode variar de acordo com sua origem, podendo conter grande quantidade de matéria orgânica ou ainda apresentar altas concentrações de metais tóxicos, representando um grave problema para o meio ambiente (QUINTELAS *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2011).

Frente a essa problemática, busca-se aliar desenvolvimento econômico com proteção ambiental, na qual se têm intensificado os estudos baseados em processos biológicos para tratamento de efluentes, surgindo assim a biorremediação. Dentre os microrganismos utilizados neste processo, as microalgas têm sido foco de inúmeras

investigações biotecnológicas envolvendo tratamento de efluentes, em função da sua capacidade de retenção e imobilização de metais (SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012; TANGO, 2015).

O uso de efluentes no cultivo de microalgas é benéfico para melhoria da qualidade da água, visto que as microalgas têm a capacidade de remover nitrogênio e fosfato do efluente, e então produzir biocombustível de sua biomassa (MUJTABA; LEE, 2017).

A potencial produção de biomassa de microalgas com alto teor de lipídios em efluentes pode ser demonstrada em alguns trabalhos na literatura. Por outro lado, os seguintes fatores devem ser considerados: necessidade de esterilização do efluente (devido à possibilidade de crescimento de fungos e bactérias), a dificuldade de produção em alta escala (devido ao alto custo de produção) e variações na composição dos nutrientes do meio de cultivo. Sendo assim, torna-se necessário desenvolver técnicas mais aperfeiçoadas para pós o cultivo de coleta e extração de lipídios com menor custo (CHIU *et al.*, 2015).

1.1.5.1 Constituição do efluente da Lagoa de Polimento

O efluente na Lagoa de Polimento é constituído por quatro tipos diferentes: efluente industrial, efluente oleoso, efluente ELPO (ELPO processo eletroforético) que são tratados por processos físico-químicos juntando-se ao efluente sanitário na Lagoa de Aeração, depois percorrem a Lagoa de decantação e por fim chegam à Lagoa de Polimento.

Figura 2 - Lagoas da planta de tratamento de efluentes da General Motors do Brasil – Gravataí, RS.



Fonte: Da autora (2022).

1.1.6 Fatores que influenciam a produção de biomassa

A interação entre fatores físicos, químicos e biológicos influencia diretamente no cultivo de microalgas, podendo promover ou inibir seu crescimento. Os fatores biológicos estão associados ao metabolismo celular e a presença de contaminantes no sistema, enquanto que os fatores físicos e químicos estão relacionados aos efeitos provocados pela luz, temperatura, pH e disponibilidade de fontes de carbono e nutrientes (DERNER, 2006). A seguir serão apresentados os principais fatores que influenciam os cultivos e os efeitos causados sobre o crescimento das microalgas.

A intensidade luminosa está diretamente relacionada à etapa fotoquímica da fotossíntese, quando ocorre a absorção da luz através das moléculas de clorofila, síntese de trifosfato de adenosina (ATP) e a fotólise da água. Em termos gerais, a fotossíntese pode ser definida pelo processo pelo qual a energia luminosa possibilita a síntese de carboidratos e oxigênio a partir de dióxido de carbono e água. Segundo Lourenço (2006), a iluminação é um dos pilares do cultivo autotrófico de microalgas e requer especial atenção.

Derner (2006) ressalta que a quantidade de luz recebida pelas células em cultivo está diretamente relacionada ao carbono que será fixado pelas microalgas e assim influenciará na taxa de crescimento das culturas. Quando há excesso de luz pode ocorrer o fenômeno de foto inibição, definido pela alteração e eventual

inativação da foto sistema II (PSII), afetando o transporte de elétrons na cadeia de reações de redução NADP⁺ a NADPH. A foto inibição é um complexo conjunto de processos moleculares, definidos como a inibição da fotossíntese pelo excesso de luz, que pode ser classificado como moderado ou intenso o que determina se a foto inibição é dinâmica ou crônica.

Assim como todos os seres vivos, as algas apresentam taxa máxima de crescimento relacionada a uma determinada faixa de temperatura, variando de acordo com a espécie e suas adaptações fisiológicas ao meio no qual vive. De maneira geral, abaixo ou acima destes valores ocorre redução na velocidade de crescimento, alterações metabólicas e fisiológicas e/ou morte celular (THOMPSON; GUO; HARRISON, 1992).

A temperatura ideal para os cultivos de microalgas, de modo geral, está entre 20 e 24 °C, embora possa variar em função da espécie utilizada. Para algumas espécies a elevação da temperatura pode diminuir a quantidade de ácidos graxos insaturados e aumentar a quantidade de ácidos graxos saturados. Este fator pode contribuir para a produção de biodiesel de melhor qualidade, elevando o número de cetano e aumentando a estabilidade oxidativa do combustível (THOMPSON; GUO; HARRISON, 1992).

Muitos elementos químicos estão presentes nos ambientes aquáticos, sua distribuição não é homogênea. Dessa forma, enquanto alguns componentes ocorrem em elevadas concentrações, outros podem apresentar pouca disponibilidade. Nos ambientes naturais a concentração dos nutrientes não é uniforme em função das variáveis ambientais, nos meios de cultivo estes são oferecidos de forma controlada, a fim de fornecer as melhores condições de crescimento das microalgas, sendo que os macronutrientes correspondem a cerca de 80% da massa dos seus componentes (CHIU *et al.*, 2015).

O pH afeta diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos presentes no meio. Estes podem cristalizar e precipitar dependendo do pH do cultivo. Assim, o pH deve ser mantido próximo à neutralidade para que os componentes do meio possam ser efetivamente absorvidos pelas microalgas (LOURENÇO, 2006).

O crescimento das microalgas envolve o consumo do CO₂ dissolvido no meio, acarretando a elevação do pH (comumente > 10). De maneira inversa, o aumento da concentração de CO₂ solubilizado no meio aquoso pode reduzir o pH (<5) e

consequentemente inibir o crescimento de algumas espécies de microalgas (PIRES *et al.*, 2012). Apesar de permitirem uma variação discreta no pH dos cultivos, a utilização de soluções tampão pode inviabilizar os custos em sistemas de produção de microalgas em grande escala.

Outra maneira de regular as variações de pH é a aeração dos cultivos, com bombeamento de ar atmosférico (0,03% de CO₂) ou com ar enriquecido de CO₂, em concentração ideal para a espécie utilizada. Em sistemas de cultivo de larga escala o uso de soluções tampão e/ou suplementação de CO₂ pode tornar os custos de produção proibitivos, em função do baixo aproveitamento pelas microalgas (LOURENÇO, 2006).

1.1.7 Aplicações

Os usos das microalgas são as mais variadas, das mais simples às mais complexas. Esses microrganismos despertam grande interesse na mitigação de impactos ambientais. Pesquisas nas últimas décadas centradas principalmente na exploração de microalgas para a extração de produtos de valor comercial e, também, para utilização em sistemas de tratamento de águas residuais. Nesta última aplicação, elas retiram os nutrientes e os metais pesados e, posteriormente, a sua biomassa pode ser utilizada para outras aplicações industriais e agrícolas (LOURENÇO, 2006).

As microalgas podem apresentar um grande potencial no tratamento de efluentes por necessitarem de nutrientes como nitrogênio e fósforo, permitindo a manutenção da água nos próprios tanques de piscicultura, por exemplo, onde os mesmos apresentam uma alta taxa desses compostos resultantes das excretas dos peixes. Sendo assim, o conhecimento da cinética de crescimento ou duplicação celular das microalgas em tanques de piscicultura torna-se um importante elemento para assegurar novos conhecimentos e, consequentemente, agregar qualidade à produtividade do pescado e ao meio ambiente. No entanto, para uma ótima operação de um sistema de remediação de águas residuais com microalgas é necessária uma análise cuidadosa do método mais eficiente de cultivo e determinação das espécies mais adequadas para esse propósito (LOURENÇO, 2006).

A produção de microalgas pelo fornecimento de efluente e/ou gás de combustão, ao invés de água-doce e/ou CO₂ (insumo antieconômico), convencionalmente aliviaria prováveis impactos de emissões industriais e disposição de resíduos em ecossistemas naturais, aquáticos, terrestres e aéreos. A integração de cultivo comercial à biorremediação preservaria o ambiente e, simultaneamente, economizaria custos de gestão de estações de tratamento de dejetos (YANG *et al.*, 2011).

Devido à limitação de crescimento das microalgas com o aumento e diminuição de compostos como nitrogênio e fósforo, elas são muito utilizadas no tratamento e reutilização de efluentes de águas residuais domésticas, agroindustriais e agropecuárias (bovinocultura, suinocultura e aquicultura, em especial na água de piscicultura que uma alta taxa desses compostos resultantes das excretas dos peixes e decomposição dos restos de rações não consumidas) (LOURENÇO, 2006).

2. OBJETIVO DO TRABALHO

O objetivo geral do trabalho consistiu em utilizar a microalga *Raphidocelis subcapitata*, na etapa final do tratamento de efluente industrial, visando à redução do nitrogênio amoniacal e conseqüentemente a diminuição do número de aeradores, usados na lagoa de aeração, visto que atualmente, na lagoa de aeração da planta de tratamento de efluentes do Complexo Automotivo da General Motors do Brasil, em Gravataí- RS, utilizam-se 8 aeradores de 20 CV (cavalo/força) o que gera um consumo energético elevado. O uso dos aeradores está diretamente relacionado à quantidade de nitrogênio na lagoa de aeração, portanto, pretendeu-se, com a redução da quantidade de nitrogênio amoniacal, minimizar os custos de energia elétrica da estação de tratamento de efluentes e tornar o processo mais sustentável.

Como objetivos específicos tiveram-se:

- Coletar e preparar amostra do efluente da lagoa de polimento da planta de tratamento de efluentes do complexo automotivo da General Motora do Brasil, em Gravataí – RS.
- Cultivar a microalga *Raphidocelis subcapitata* no efluente da Lagoa de Polimento, em diferentes pHs.
- Analisar o efeito da aplicação da microalga *Raphidocelis subcapitata* na redução do nitrogênio amoniacal do efluente.
- Avaliar a eficiência da aplicação do uso da microalga no processo de tratamento de efluente industrial.

3. METODOLOGIA

3.1 COLETA E PREPARO DE EFLUENTE DA LAGOA DE POLIMENTO DA PLANTA DE TRATAMENTO DE EFLUENTES DO COMPLEXO AUTOMOTIVO DA GENERAL MOTORA DO BRASIL, EM GRAVATAÍ - RS

A amostra do efluente da Lagoa de Polimento foi coletada no ponto inicial de lançamento para o Rio Gravataí. Primeiramente, o frasco de polietileno de 2L foi ambientado, três vezes, com o efluente coletado em torneira. Posteriormente, coletou-se na torneira, 2L do efluente, fazendo o transbordo do líquido no recipiente. A amostra depois de coletada foi colocada em caixa térmica com gelo, mantendo a sua temperatura ≤ 6 °C. No mesmo dia, foi transportada até o laboratório do Departamento de Controle Técnico e Ensaio (DECTE) da Companhia Rio-grandense de Saneamento Básico (CORSAN).

Figura 3 - Amostra do efluente proveniente da Lagoa de Polimento da planta de tratamento de efluentes do complexo automotivo da General Motora do Brasil, em Gravataí - RS.



Fonte: Da autora (2022).

A amostra do efluente da Lagoa de Polimento foi filtrada, a vácuo, em laboratório, com o auxílio de duas membranas de microfibras de vidro com gramaturas diferentes: 70 g/m² e 85 g/m², retendo partículas de até 0,6 µm e 0,4 µm, respectivamente. A filtração foi aplicada ao efluente a fim de se diminuir a presença de microrganismos interferentes, evitando alterações nos resultados esperados.

Figura 4 - Filtração do efluente com membrana de microfibras de vidro com gramatura 70 g/m² (figura à esquerda) e filtração do efluente com a membrana com gramatura 85 g/m² (figura à direita).



Fonte: Da autora (2022).

Figura 5 - Meios filtrantes com o máximo de retenção microrganismos em especial algas presentes no efluente.



Fonte: Da autora (2022).

3.2 EFEITO DA APLICAÇÃO DA MICROALGA *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA* NA REDUÇÃO DO NITROGÊNIO AMONÍACAL DO EFLUENTE, EM DIFERENTES pH'S

3.2.1 Preparação do pré-inóculo da microalga *Raphidocelis subcapitata* em meio oligo

O tipo de cultura utilizada foi unialgal, cultura de microrganismos contendo apenas um tipo de organismo presente no meio em estudo. A microalga

Raphidocelis subcapitata utilizada neste trabalho foi pré-cultivada e armazenada utilizando-se o meio de cultivo Oligo, cuja composição encontra-se explicitada na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Compostos utilizados para o preparo do meio Oligo.

Solução	Regente	Massa (g)	Preparo
1	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	4	Dissolver e adicionar água reagente para completar 100 mL
2	KNO ₃	10	Dissolver e adicionar água reagente para completar 100 mL
3	MgSO ₄ · 7H ₂ O	3	Dissolver e adicionar água reagente para completar 100 mL
4	K ₂ HPO ₄	4,0	Dissolver e adicionar água reagente para completar 100 mL
5	CuSO ₄ · 5H ₂ O (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O ZnSO ₄ · 7H ₂ O CoCl ₂ · 6H ₂ O Mn(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O C ₆ H ₅ O ₇ · H ₂ O H ₃ BO ₃	0,030 0,060 0,060 0,060 0,060 0,060 0,060	Dissolver e adicionar água reagente para completar 1000 mL
6	C ₆ H ₅ FeO ₇ · 5H ₂ O FeSO ₄ · 7H ₂ O FeCl ₃ · 6H ₂ O	1,625 0,625 0,625	Dissolver e adicionar água reagente para completar 1000 mL
7	NaHCO ₃	15	Dissolver e adicionar água reagente para completar 1000 mL

Fonte: Da autora (2022).

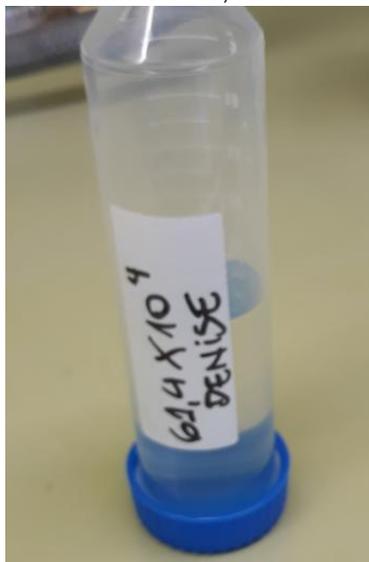
O meio Oligo foi preparado adicionando-se a uma proveta de 1L, 500 mL de água reagente (osmose ou destilada), 100 mL das soluções (1, 2, 3 e 4), 0,5mL das soluções (5 e 6) e 1mL da solução 7. Aferiu-se o volume da solução para 1L (pH entre 6 e 8) e autoclavou-se por 15min a 121 °C.

As microalgas se reproduziram primeiramente em meio sólido, em placa de Petri, e posteriormente, as colônias foram transferidas para erlenmeyers contendo 100 mL do meio Oligo. Foram incubadas entre 23 e 27 °C em luminosidade contínua de aproximadamente 4500 lux, por 72 h sob agitação orbital contínua a 100 rpm, até crescimento algáceo obtido. Após incubação, uma alíquota de 50 mL do cultivo foi lavada, centrifugada em frasco esterilizado por 15 minutos a 1500 rpm. Descartou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se em 20 mL com o meio de cultura. Centrifugou-se por mais 15 minutos a 1500 rpm, retirou-se o sobrenadante e repetiu-se a operação. Por fim, foi retirada uma amostra da suspensão resultante e contou-se o número de células em Câmara Neubauer.

A partir da biomassa obtida, prepararam-se cinco diluições, originárias da suspensão inicial, para a construção da curva de regressão linear que foi utilizada na determinação do crescimento algáceo nos ensaios. O inóculo de algas foi preparado a partir da suspensão utilizada na curva de regressão linear e adicionado no

recipiente-teste, de forma que a concentração inicial de algas estava entre 10^3 a 10^5 células/mL.

Figura 6 - Pré-inóculo contendo $61,4 \times 10^4$ células de microalga.



Fonte: Da autora (2022).

3.2.2 Cultivo da microalga *Raphidocelis subcapitata*, em diferentes pHs, no efluente da Lagoa de Polimento

Para avaliar o efeito de diferentes pHs no cultivo da microalga, após a filtração da amostra do efluente coletada e filtrada, a mesma foi dividida em triplicata e teve seu pH ajustado em três faixas de pHs: 6,4, 7,0 e 7,4, utilizando HCl 1 mol/L e NaOH 2 mol/L.

Figura 7 - Amostra do efluente da Lagoa de Polimento filtrada e separada em triplicata.



Fonte: Da autora (2022).

Feito o ajuste de pHs das amostras, elas foram replicadas em três vias X1, X2, X3 (amostras de efluente em pH 6,4), Y1, Y2, Y3 (amostras de efluente em pH 7,0) e Z1, Z2, Z3 (amostras de efluente em pH 7,4). Além disso, foram preparados dois controles em triplicata. Sendo o controle positivo A1, A2, A3: amostra do efluente filtrado, com a microalga em pH 7,02 e o controle negativo B1, B2, B3: amostra do efluente filtrado, sem a microalga em pH 7,02. Foram adicionados 50 mL das amostras e dos controles em erlenmeyers de 150 mL. A montagem dos experimentos ocorreu em capela de fluxo laminar, a fim de manter a cultura isenta de contaminação.

A montagem dos testes foi realizada adicionando-se 1 mL do inóculo na concentração $1,23 \times 10^4$ células.mL⁻¹ em 50 mL de amostra. Após receber o inóculo, os frascos foram agitados para homogeneização das soluções e fechados com tampões de papel alumínio, que foram previamente autoclavados juntamente com os frascos que seriam utilizados no teste.

Figura 8 - Preparo dos materiais para inoculação da microalga nas amostras de efluentes testadas.



Fonte: Da autora (2022).

Por fim, os frascos foram distribuídos aleatoriamente na mesa agitadora orbital, em posições alternadas, de modo a diminuir possíveis diferenças de luminosidade e temperatura no crescimento da microalga.

Os testes foram manipulados em condições assépticas, com temperatura controlada de 25°C (\pm 1°C), sob agitação orbital contínua de 100 rpm, em mesa agitadora orbital e iluminação permanente de 4.800 lux, por um período de 5 dias.

Transcorridos os dias de incubação, os frascos foram removidos da mesa de agitação para execução das análises.

Figura 9 - Amostras no início (figura à esquerda) e após 5 dias (figura à direita) de incubação, na mesa agitadora orbital.

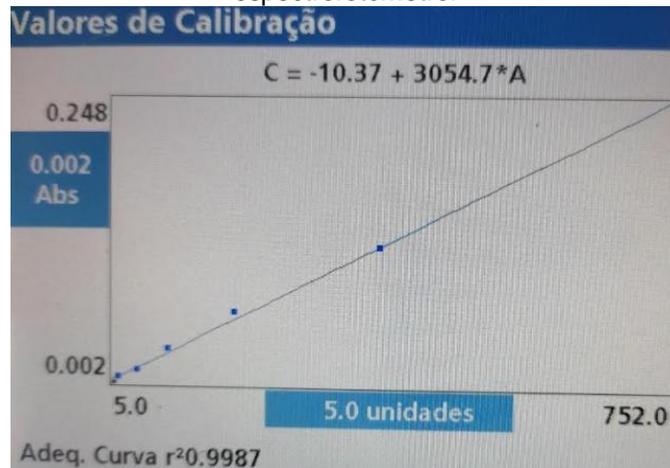


Fonte: Da autora (2022).

3.2.3 Análise do crescimento microbiano

Decorridos os cinco dias de incubação das amostras, foram realizadas as análises do crescimento da biomassa microalgal a partir da leitura da absorbância a 750nm em espectrofotômetro. Quanto maior a concentração de células em suspensão, maior a quantidade de luz absorvida, e conseqüentemente, maior o valor da absorbância. As leituras dos valores de absorbância foram efetuadas em todas as amostras, sem qualquer preservação, imediatamente, após a retirada de uma alíquota de cada amostra e transferência desta para a cubeta do espectrofotômetro Cary 1-E (Varian). O equipamento foi calibrado com o “branco” representado por água de osmose.

Figura 10 - Curva de calibração do crescimento da microalga, no eixo x tem-se a quantidade de células contadas em câmara de Neubauer e no eixo y tem-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 11 - Análise do crescimento da microalga, em diferentes pHs, nas amostras de efluente e nos controles, através da leitura da absorbância a 750nm em espectrofotômetro.



Fonte: Da autora (2022).

3.2.4 Análise de nitrogênio amoniacal no efluente

O método analítico descrito abaixo segue o Standard Methods, 2017. As amostras e controles foram ambientados a temperatura de 20 +/- 5° C. Depois de ambientadas, mediu-se 50 mL de cada amostra, transferiu-se para um tubo digestor que recebeu 2,5 mL de solução tampão de borato, com pH 9,5 e uma gota de fenolftaleína 1%. A adição da solução tampão de borato serviu para garantir que todo o NH_4^+ da amostra se transformasse em NH_3 , além de reduzir a ação de interferentes na reação. As amostras e controles, com os reagentes, foram

homogeneizados antes da conexão do tubo digestor ao equipamento automático de destilação de nitrogênio UDK-129. O destilador automático foi programado para adicionar hidróxido de sódio a 32%, durante a destilação. As amostras foram destiladas por um período de 5 minutos, resultando em alíquotas de aproximadamente 100 mL de destilado (amônia). O objetivo desta etapa foi transformar o nitrogênio presente na solução na forma de sulfato de amônio (NH_4^+) para NH_3 gasoso. Com adição de NaOH concentrado e aquecimento, ocorre a liberação da amônia que foi separada da mistura por destilação. Cada amostra teve o seu nitrogênio amoniacal recolhido em erlenmeyer de 250 mL, contendo 20 mL de solução de ácido bórico 2% com indicador misto de azul de metileno e vermelho de metila. O indicador em meio ácido tem a cor roxa e em meio básico a sua cor é esverdeada. As soluções dos erlenmeyers tinham inicialmente uma coloração roxa e conforme ocorreu à concentração do meio com amônia, na destilação, a mesma ficou verde, indicando a presença de nitrogênio amoniacal.

Além da destilação das amostras e controles, preparou-se uma prova em branco com água de osmose e demais padrões de controle, realizando o mesmo tratamento dado inicialmente a todas as amostras. Após o processo de destilação, procedeu-se a titulação da amônia obtida com solução de ácido sulfúrico 0,02N, a fim de se determinar a concentração de nitrogênio amoniacal. Titulou-se as amostras, brancos e padrões, recolhidos nos erlenmeyers durante a destilação, com o reagente ácido sulfúrico 0,02N até a viragem da cor verde para o violeta. Iniciou-se a titulação pela prova em branco e utilizou-se a cor final desta, como comparativo de cor para o ponto de viragem para as demais amostras. As análises foram realizadas em triplicatas.

3.2.4.1 Quantificação do nitrogênio amoniacal

Os cálculos para determinação do nitrogênio amoniacal nas amostras foram realizados através das **equações 1 e 2** abaixo:

Cálculo da Prova em Branco (PB)

$$\text{PB (mg. L}^{-1}\text{N)} = \frac{V_{\text{tit}} \times N_{\text{tit}} \times 14000}{50} \quad (1)$$

Cálculo da Amostra

$$PB \text{ (mg. L}^{-1}\text{N)} = \left(\frac{V_{\text{tit}} \times N_{\text{tit}} \times 14000}{V_{\text{amostra}}} \right) - PB \quad (2)$$

V_{tit} = Volume de titulante gasto na titulação

N_{tit} = Concentração real do titulante

V_{amostra} = Volume de amostra utilizado na destilação

14000 = Constante de simplificação

PB = Concentração mg.L^{-1} , da prova em branco na batelada

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O efluente na Lagoa de Polimento é constituído por quatro tipos diferentes de resíduos: efluente industrial, efluente oleoso e efluente ELPO (proveniente do processo eletrolítico da automobilística) que são tratados a partir da formação de uma batelada com percentuais diferentes desses compostos. Após o tratamento físico-químico, esse efluente se junta ao efluente sanitário na Lagoa de Aeração, depois percorrem a Lagoa de Decantação e por fim chegam à lagoa de polimento. O efluente que constitui a Lagoa de Polimento nem sempre é igual, pois vai depender das quantidades dos efluentes disponíveis e para serem tratados.

O nitrogênio amoniacal é um parâmetro utilizado para determinar a presença de compostos de nitrogênio em água, usualmente utilizada como indicação da presença de matéria orgânica. A amônia contribui para a fertilização da água, sendo uma substância tóxica não persistente e não cumulativa. Quando encontrada nas águas naturais em baixa concentração não afeta ao homem, nem os mamíferos em geral, porém em altas concentrações de amônia, os peixes são mortos por asfixia, pois esta reduz a capacidade de transporte de oxigênio do sangue destes animais.

O uso de microalgas na fase final do tratamento de efluentes se apresenta como uma alternativa de baixo custo e alta eficiência uma vez que esses organismos são capazes de diminuir os níveis de N e P do material tratado além de sua capacidade de metabolizar metais pesados e hormônios que são encontrados no esgoto doméstico.

A microalga *Raphidocelis subcapitata* é comumente usada como bioindicadora para avaliação dos níveis de nutrientes ou substâncias tóxicas em ambientes de água doce, pois elas são bioacumuladoras no processo de biorremediação. Tem importância na cadeia alimentar do ambiente aquático, sendo responsável não somente pela produção primária, mas também pelo estabelecimento de importantes relações bióticas. Além disso, seu ciclo de vida curto, altas taxas de crescimento, facilidade para manter as culturas e sua capacidade de crescer em meios sintéticos bem definidos, faz deste o organismo um dos mais importantes para avaliação da toxicidade aquática (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

Com o objetivo de avaliar a atuação da microalga *Raphidocelis subcapitata* no efluente da Lagoa de Polimento da planta de tratamento de efluentes do Complexo

automotivo da General Motors do Brasil, em Gravataí- RS, uma amostra do efluente da Lagoa de Polimento foi coletada no ponto inicial de lançamento para o Rio Gravataí. A amostra foi filtrada com dois filtros de gramaturas diferentes, a fim de se diminuir a presença de microrganismos interferentes, evitando alterações nos resultados esperados. A amostra foi dividida em triplicata e teve seu pH ajustado em três faixas de pH: 6,4, 7,0 e 7,4. A faixa de pHs escolhida apresenta um melhor crescimento da biomassa da microalga *Raphidocelis subcapitata*. Feito o ajuste de pHs das amostras, elas foram replicadas em três vias X1, X2, X3 (amostras de efluente em pH 6,4), Y1, Y2, Y3 (amostras de efluente em pH 7,0) e Z1, Z2, Z3 (amostras de efluente em pH 7,4). Além disso, foram preparados dois controles em triplicata. Sendo o controle positivo a microalga cultivada em meio Oligo (A1, A2, A3) e o controle negativo as amostras de efluente em diferentes pHs sem o inóculo (B1, B2, B3). As amostras foram inoculadas com $1,23 \times 10^4$ células. mL⁻¹ de microalgas e mantidas sobre incubação a temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), sob agitação orbital contínua de 100 rpm, iluminação permanente de 4.800 lux, por um período de 5 dias.

Após cultivo, avaliou-se o crescimento da microalga nas amostras testadas. A partir da **tabela 2**, pode-se verificar que as 3 condições analisadas possibilitaram o crescimento da microalga no efluente. A amostra Y apresentou um ligeiro aumento no crescimento da concentração biomássica em relação as amostras X e Z. As amostras Y1, Y2, Y3 estavam ajustadas na faixa de pH=7,00. Esse pH é o que se aproxima do pH da Lagoa de Polimento (7,02), estabelecendo uma condição bem próxima a realidade da lagoa. O pH afeta diretamente a disponibilidade de vários elementos químicos presentes no meio, estes podem cristalizar e precipitar dependendo do pH do cultivo. Assim, o pH deve ser mantido próximo à neutralidade para que os componentes do meio possam ser efetivamente absorvidos pelas microalgas (LOURENÇO, 2006). As amostras A1, A2, A3 (controles positivos) apresentaram crescimento no número de células, já as amostras B1, B2, B3 (controles negativos) não apresentaram crescimento da sua biomassa. Ambos os controles validam o método e as condições em que as amostras foram submetidas.

Tabela 2 - Análise do crescimento da microalga nas amostras testadas a partir da leitura da absorbância a 750nm em espectrofotômetro.

AMOSTRAS	TRIPLICATA 1 Nº células.mL ⁻¹	TRIPLICATA 2 Nº células.mL ⁻¹	TRIPLICATA 3 Nº células.mL ⁻¹	MÉDIA DAS TRIPLICATAS Nº células.mL ⁻¹
A (pH=7,02)	688,1x 10 ⁴	668,6 x 10 ⁴	619,8 x 10 ⁴	658,8 x 10 ⁴ ± 35,2
B (pH=7,02)	0	0	0	0,0
X (pH=6,40)	11,3 x 10 ⁴	11,8 x 10 ⁴	13,4 x 10 ⁴	12,2 x 10 ⁴ ± 1,1
Y (pH=7,00)	16,6 x 10 ⁴	19,6 x 10 ⁴	17,7 x 10 ⁴	18,0 x 10 ⁴ ± 1,5
Z (pH=7,40)	14,2 x 10 ⁴	14,9 x 10 ⁴	15,1 x 10 ⁴	14,7 x 10 ⁴ ± 0,5

Fonte: Da autora (2022).

Com relação ao consumo do nitrogênio, presente no efluente, pela microalga, pode-se observar, na **tabela 3**, que as três condições testadas propiciaram uma significativa redução da quantidade de nitrogênio amoniacal. Apesar de a microalga ter apresentado crescimento similar nas três condições testadas, a amostra X, incubada em pH 6,40 apresentou um percentual médio de redução do nitrogênio amoniacal de 63,87%, sendo relativamente maior que as porcentagens de redução verificadas nas amostras Y em pH 7,00 e Z em pH 7,40 (61,61% e 52,57) respectivamente. Estatisticamente, tanto a condição X como a Y foram eficientes no crescimento da microalga e no consumo do nitrogênio do efluente testado.

O nitrogênio pode ter sido assimilado pelas microalgas na forma de nitrato ou amônia. Estas formas de nitrogênio podem ser utilizadas pelos microrganismos na síntese de compostos celulares, na produção de proteínas e outros compostos que contém nitrogênio. Como o pH da Lagoa de Polimento é próximo a 7,0, verifica-se que o uso da microalga *Raphidocelis subcapitata* para a remoção de nitrogênio amoniacal na lagoa de polimento será eficiente.

Tabela 3 - Consumo do nitrogênio amoniacal do efluente, após cultivo da microalga em diferentes pHs.

AMOSTRAS	pH INICIAL	NH ₃ INICIAL ppm	pH FINAL	NH ₃ FINAL ppm	% MÉDIO DE REDUÇÃO NH ₃
X	7,02	8,96	6,40	3,24 ± 0,35	63,87 ± 3,91
Y	7,02	8,96	7,00	3,44 ± 0,35	61,61 ± 3,91
Z	7,02	8,96	7,40	4,25 ± 0	52,57 ± 0

Fonte: Da autora (2022).

4.1 ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DO PROCESSO

Atualmente, a estação de tratamento de efluentes da General Motors do Brasil tem um gasto com o consumo energético de aproximadamente 70.000,00 ao mês. O custo elevado se deve a alta potência, de 20 CV (cavalo-vapor), dos oito aeradores presentes na Lagoa de Aeração. O uso deles é intermitente e se faz necessário para que o parâmetro de nitrogênio amoniacal fique dentro da legislação, regulamentada pela resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 430/11 que dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para o lançamento de efluentes em corpos de água. Ela determina que o limite máximo de nitrogênio amoniacal seja de 20,0 ppm. Estando o parâmetro dentro do limite de aceitação, o efluente poderá ser lançado no corpo receptor, Rio Gravataí, obedecendo à resolução do (CONAMA) e a Licença de Operação da planta emitida pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM), órgão fiscalizador no estado do Rio Grande do Sul.

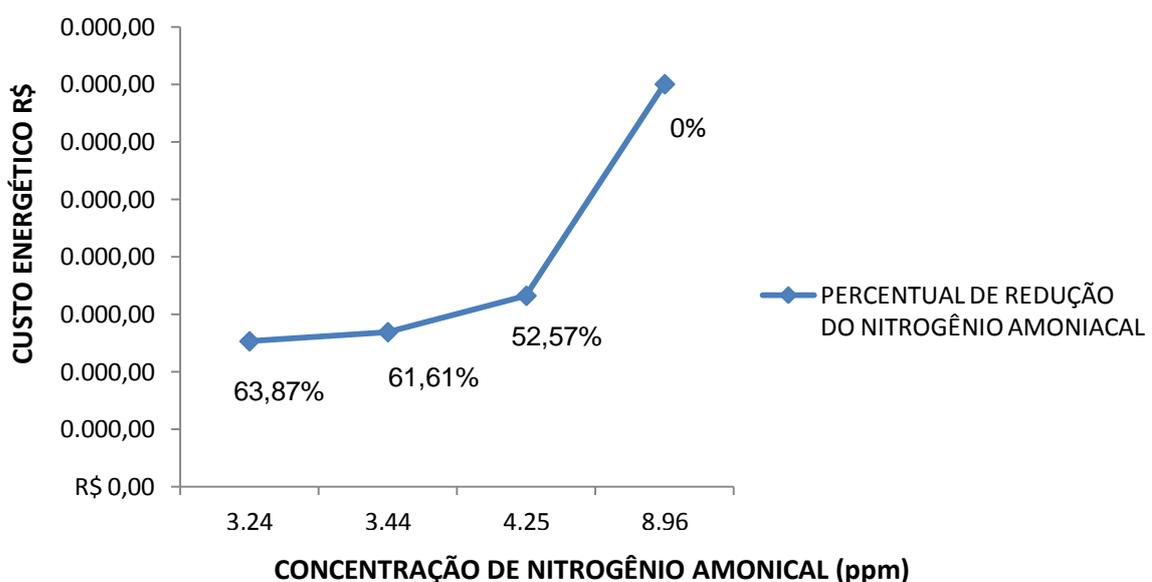
O cultivo da microalga *Raphidocelis subcapitata* utilizado na redução do nitrogênio amoniacal da Lagoa de Polimento mostrou-se vantajoso na análise da eficiência do processo de biorremediação. Elas possuem a capacidade de metabolizar e consumir o nitrogênio amoniacal do efluente, aumentando a sua biomassa.

Ao se analisar o gráfico do Custo energético R\$ pela concentração de nitrogênio amoniacal (ppm) na **figura 12**, pode-se verificar que à medida que a concentração de nitrogênio amoniacal vai aumentando o custo energético também aumenta. Através do estudo com a microalga *Raphidocelis subcapitata* foi possível

reduzir a concentração inicial de nitrogênio amoniacal de 8,96 para 3,24 amostra X, 3,44 amostra Y e 4,25 ppm amostra Z. A porcentagem de redução de nitrogênio tem uma relação direta e proporcional com a redução de custo energético com os aeradores. Portanto, a amostra X possibilitará um percentual de redução no custo energético de 63,87%, a amostra Y de 61,61% e a amostra Z de 54,27%. Analisando os dados em um período de um mês pode-se concluir que a mostra X possibilitará uma redução no custo energético de R\$ 44.709,00, a amostra Y e R\$ 43.127,00 e amostra Z de R\$ 36.000,00 em relação ao valor do custo energético do mês.

Em um mês, o custo energético da estação de tratamento é de R\$70.000,00, utilizando-se oito aeradores de 20CV. Considerando o estudo com a microalga para a redução de nitrogênio amoniacal, conclui-se que seria necessária a utilização em média de três aeradores, na Lagoa de Aeração, de modo intermitente, minimizando o custo energético, em aproximadamente R\$40.000,00, ao mês. Essa compensação entre o número de aeradores com a concentração de nitrogênio amoniacal deve levar, também, em consideração outros fatores do processo como: a quantidade de efluente disponível, quantidade de matéria orgânica no efluente a ser tratado, sensibilidade das microalgas em relação à toxicidade do efluente e consumo energético de outros equipamentos.

Figura 12 - Custo energético (R\$) x concentração de nitrogênio amoniacal (ppm).



Fonte: Da autora (2022).

5. CONCLUSÃO

Os compostos de nitrogênio presentes em águas e efluentes são prejudiciais ao meio ambiente, impactando os ecossistemas naturais, além de se constituir um risco também para a saúde humana. Altos níveis de nitrogênio nos efluentes, quando lançados num corpo receptor, podem induzir o processo de eutrofização, diminuindo consideravelmente a quantidade de O₂ dos mananciais, tornando o tratamento dessas águas mais difícil e caro.

A crescente demanda por produtos e serviços tem elevado drasticamente a atividade industrial, gerando cada vez mais esses resíduos, cuja composição pode variar de acordo com sua origem, podendo conter grande quantidade de matéria orgânica ou ainda apresentar altas concentrações de metais tóxicos, representando um grave problema para o meio ambiente (QUINTELAS *et al.*, 2008; YANG *et al.*, 2011).

A biorremediação apresenta-se como tecnologia promissora e em expansão, para o tratamento de efluentes, pois demanda baixo custo e apresenta uma alta eficiência, uma vez que as microalgas possuem a capacidade de diminuir os níveis de N e P do material tratado, além de sua capacidade de metabolizar metais pesados presentes no efluente.

O impacto esperado dos resultados na produtividade e/ou tecnologia no uso das microalgas mostrou-se positivo e eficiente na redução de nitrogênio amoniacal da Lagoa de Polimento. Podendo ser aplicada no final do tratamento, apresentando como vantagens o aumento da eficiência do processo, a diminuição dos custos com energia elétrica, trazendo sustentabilidade ao meio ambiente. Desta forma, é possível a sua aplicação para tais finalidades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. Washington, USA: 23rd Edition, 2017.

ANDRADE, D. S.; FILHO-COLOZZI, A. **Microalgas de águas continentais, potencialidades e desafios do cultivo**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2014.

ANTONIO, P. R. **Avaliação do efeito do CO₂ na produção lipídica de *Chlorella vulgaris* visando à produção de biodiesel**. Rio de Janeiro, f. 108, 2014. Dissertação (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://186.202.79.107/download/avaliacao-do-efeito-do-co2-na-producao-lipidica-de-chlorella-vulgaris.pdf>. Acesso em: 4 fev. 2022.

BAIEE, M. A. Effect of phosphorus concentration and light intensity on protein content of microalga *Chlorella vulgaris*. **Mesopotamia Environmental Journal**, v. 2, n. 2, p. 75–86, 2016.

BECKER, E. W. Microalgae for human and animal consumption. In: BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. (ed.). **Microalgal biotechnology**. Cambridge: 88 Cambridge University Press, 1988, p. 222-255. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000072&pid=S0101-2061200300010000300001&lng=pt. Acesso em: 02 abr. 2022.

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

CHAUDHARY, L., *et al.* Algae as a feedstock for bioethanol production: new entrance in biofuel world. **International Journal of Chemical Technology Research**, v. 6, n. 2, p. 1381–1389, 2014.

CHIU, S. *et al.* Bioresource technology cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 179–189, 2015.

DANTAS, M. B. **Obtenção, caracterização e estudo termoanalítico de biodiesel de milho (*Zea mays L.*)**. João Pessoa, f. 133, 2006. Dissertação (Química Analítica) - UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, João Pessoa, 2006. Disponível em: https://www.ufpb.br/ppgq/contents/documentos/teses-e-dissertacoes/dissertacoes/2006/Dissertacao_Manoel_B_Dantas.pdf/@@download/file/Dissertacao_Manoel_B_Dantas.pdf. Acesso em: 4 mar. 2022.

DE-BASHAN, L. E.; MORENO, M.; HERNANDEZ, Y. B. Removal of ammonium and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella Vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth-promoting bacteria *Azospirillum brasilense*. **Water Research**, v. 36, p. 2941–2948, 2001.

DENG, X., *et al.* Growing *Chlorella vulgaris* on mixed wastewaters for biodiesel feedstock production and nutrient removal. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 93, n. 9, p. 2748–2757, 2018.

DERNER, R. B., *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1959-1967, 2006.

GHIMIRE, A., *et al.* Bio-hythane production from microalgae biomass: Key challenges and potential opportunities for algal bio-refineries. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 525–536, 2017.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In*: SMITH, W. L., CHANLEY, MH. (Eds.). **Culture of marine invertebrate animals**. New York: Plenum, 1975

GUMBI, S. T., *et al.* Isolation, identification and high-throughput screening of neutral lipid producing indigenous microalgae from South African aquatic habitats. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 182, n. 1, p. 382–399, 2017.

HEIDARI, S. A.; FARHADIAN, O.; MAHBOOBI, S. N. Biomass Production and ammonia and nitrite removal from fish farm effluent by *Scenedesmus quadricauda* culture. **Journal of Environmental Studies**, v. 37, p. 7–9, 2011.

HESNI, M. A. *et al.* Using *Chlorella vulgaris* and iron oxide nanoparticles in a designed bioreactor for aquaculture effluents purification. **Aquacultural Engineering**, v. 90, 2020.

KANDILIAN, R. *et al.* Influence of light absorption rate by *Nannochloropsis oculata* on triglyceride production during nitrogen starvation. **Bioresource Technology**, v. 163, p. 308–319, 2014.

KIM, G., *et al.* Cultivation of four microalgae species in the effluent of anaerobic digester for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 738–742, 2017.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

MEINERZ, L. I. **Influência da temperatura, salinidade e nutrientes dissolvidos (N e P) no cultivo de microalgas de água estuarina e costeira**. Rio Grande, f. 76, 2007. Dissertação (Apicultura) - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE, Rio Grande, 2007. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/bitstream/handle/1/8535/Lisandra.pdf?sequence=1>. Acesso em: 7 mar. 2022.

MONTEGGIA, L. O; TESSELE, F. **Remoção físico-química de algas e fósforo de efluentes de lagoas de alta taxa**. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. v. 2, p. 97-102, 2001.

MOURA JUNIOR, A. M., *et al.* Composição química de microalgas em cultivo semi-intensivo: *Chaetoceros gracilis* Schutt, *Isochrysis galbana* Parke e *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G. Fryxell e Hasle. **Ciência Agrônômica**, v. 37, n. 2, p. 142-148, 2006.

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

PEREIRA, C. M. P., *et al.* Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. **Química Nova**, v. 35 n. 10, p. 2013-2018, 2012.

PEREZ-GARCIA, O. *et al.* Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **WaterResearch**, v. 45, p. 11-36, 2010.

PIRES, J. C. M. *et al.* Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 3043-3053, 2012.

QUINTELAS, C. *et al.* Biosorption of Cr(VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon - a comparative study. **Journal of Hazardous Materials**, n. 153, p. 799-809, 2008.

RAMOS, R.; PIZARRO, R. Growth and bioremediation capacity of *Chlorella vulgaris* (*Trebouxiophyceae*, *Chlorophyta*) cultivated in wastewater generated in the fish farming of the yellowtail amberjack *Seriola Lalandi* (*Perciformes: Carangidae*). **Revista de Biologia Marina y Oceanografía**, v. 53, n. 1, p. 75–86, 2018.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007. 906p.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C. D.; COLLA, L. M.; Environmental applications of microalgae. **Revista Ciatec**, v.4, n.1, p. 48-60, 2012.

SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of CO₂ concentration on algal growth: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 38, p. 172–179, 2014.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Jaboticaba: FUNEP, 1995. 70 p. Boletim técnico, 1.

TANGO, M. D. **Cultivo de microalgas em efluentes da indústria de beneficiamento de carnes em fotobiorreator do tipo coluna de bolhas**. Viçosa, 2015. Dissertação (Engenharia Civil) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, Viçosa, 2015. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/6357/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2022.

THOMPSON, P. A.; GUO, M.; HARRISON, P. J. Effects of variation in temperature: On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. **Journal of Phycology**, v. 28, p. 481-488, 1992.

VASUDEVAN, P. T.; BRIGGS, M. Biodiesel production: current state of the art and challenges. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 421-430, 2008.

VIDOTTI, A. M. D. S. **Análise proteômica, crescimento e composição celular da microalga *Chlorella vulgaris* sob autotrofia, mixotrofia e heterotrofia.** Campinas, 2015 Tese (Engenharia Química) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, Campinas, 2015.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. do C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Quím. Nova**, v. 27, n. 1, 2004.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias.** 3. ed. Belo Horizonte: Ed. da UFMG: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005. 452 p.

WONG, Y. K., *et al.* Maximization of cell growth and lipid production of freshwater microalga *Chlorella vulgaris* by enrichment technique for biodiesel production. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 10, p. 9089–9101, 2017.

YANG J., *et al.* Mathematical model of *Chlorella minutissima* UTEX2341 growth and lipid production under photoheterotrophic fermentation conditions. **Bioresource Technology**, n.102, p.3077–3082, 2011.

ZHAO, B.; ZHANG, Y.; CUI, G. Carbon dioxide fixation and biomass production from combustion flue gas using energy microalgae. **Energy**, n. 89, p. 347-357, 2015.

ZHU, L., *et al.* Biodiesel production from algae cultivated in winter with artificial wastewater through pH regulation by acetic acid. **Applied Energy**, n. 128, p. 103-110, 2014.