

# Potencial de geração de biocombustíveis e biorremediação de microalgas cultivadas em efluente doméstico tratado

## *Bioremediation and biofuel generation potencial of microalgae cultivated in treated domestic wastewater*

- **Data de entrada:**  
02/10/2020
- **Data de aprovação:**  
23/08/2022

Emanuel Júnior Silva Soares<sup>1\*</sup> | Amanda Myrna de Meneses e Costa<sup>1</sup> | Natália Ferreira Silva<sup>1</sup> | Whelton Brito dos Santos<sup>1</sup> | Thiago Santos de Almeida Lopes<sup>2</sup> | Lyanne Cibely Oliveira de Sousa<sup>1</sup> | Weruska Brasileiro Ferreira<sup>1</sup>

DOI: <https://doi.org/10.36659/dae.2023.044>

### ORCID ID

Soares EJS  <https://orcid.org/0000-0002-9224-2079>  
Costa AMM  <https://orcid.org/0000-0001-9332-5581>  
Silva NF  <https://orcid.org/0000-0001-6419-8878>

Santos WB  <https://orcid.org/0000-0002-2956-8260>  
Lopes TSA  <https://orcid.org/0000-0002-0270-6133>  
Sousa LCO  <https://orcid.org/0000-0001-5676-1202>  
Ferreira WB  <https://orcid.org/0000-0003-2381-3883>

### Resumo

A presente pesquisa objetivou verificar o potencial de produção de biocombustível e capacidade de biorremediação das microalgas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acuminatus* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER cultivadas em efluente doméstico tratado por Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UASB). Foram realizados cultivos com variação de exposição luminosa e pH; posteriormente, fez-se suplementação com efluente de reator UASB. Constatou-se melhor desenvolvimento celular em meios alcalinos e com elevada exposição à luz, porém não houve diferença significativa em termos de produtividade de biomassa. Nos cultivos suplementados, a *C. vulgaris* obteve remoção de 62,95% de DQO, teor de lipídios de 18,14% e maior produtividade média. A *S. acuminatus* promoveu remoção de 32,80% de DQO e teor lipídico de 10,42%. Por seu turno, a *D. tertiolecta* BUTCHER evidenciou inadaptabilidade ao meio. Em relação ao potencial de biorremediação, não foi verificada diferença significativa entre as espécies.

**Palavras-chave:** *Chlorella vulgaris*. *Scenedesmus acuminatus*. *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER. Lipídios. Efluente de reator UASB. Remoção de carga orgânica.

### Abstract

The present research aimed to verify the biofuel production potential and bioremediation capacity of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acuminatus* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER microalgae cultivated in domestic wastewater, treated in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor (UASB). Cultures were produced with light exposure and pH variation, and afterwards UASB reactor wastewater was supplemented. It was verified a better cell development in alkaline medium with high light exposure, however, there was no significant difference in biomass productivity. In supplemented cultures, *C. vulgaris* presented 62,95% COD removal, 18,14% lipid content and overall higher productivity. *S. acuminatus* produced 32,80% COD removal and 10,42% lipid content. *D. tertiolecta* BUTCHER did not adapt to the medium. Bioremediation potential had no considerable difference among the species.

**Keywords:** *Chlorella vulgaris*. *Scenedesmus acuminatus*. *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER. Lipids. UASB reactor wastewater. Organic load removal.

<sup>1</sup> UEPB - Universidade Estadual da Paraíba - Campina Grande - Paraíba - Brasil.

<sup>2</sup> UFCG - Universidade Federal de Campina Grande - Campina Grande - Paraíba - Brasil.

\* **Autor correspondente:** [emanuel.junior.902@gmail.com](mailto:emanuel.junior.902@gmail.com).

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente o mundo enfrenta vários desafios, a exemplo da crise energética global. Em consequência disso tem-se a necessidade de desenvolver novas fontes de energia baseadas em princípios sustentáveis e que propiciem a conservação dos recursos naturais. Nesse cenário, as microalgas surgem como uma alternativa para os problemas energéticos atuais.

Segundo Nascimento et al. (2016), as microalgas se configuram como microrganismos clorofilados que convertem, a partir da fotossíntese, o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em metabólitos e produtos químicos, como proteínas, polissacarídeos e lipídios. Essas características, somadas ao acúmulo de biomassa em curtos períodos, as destacam como uma vantajosa matéria-prima para produção de biocombustíveis e as tornam objeto de estudo de inúmeros pesquisadores na comunidade científica.

A versatilidade desses microrganismos com seus arcabouços biotecnológicos também permite que atuem no tratamento de efluentes, junto com bactérias simbióticas, e na biorremediação de metais pesados e nutrientes, como nitrogênio e fósforo, os quais podem provocar a eutrofização dos meios aquáticos naturais quando presentes em altas concentrações (SRIRAM; SEENIVASAN, 2012).

Entretanto, devido aos custos de produção e recuperação da biomassa algal, o cultivo de microalgas em larga escala para geração de biocombustíveis ainda é considerado economicamente impeditivo, em comparação a outras culturas utilizadas (FRANCISCO, 2016; MATTHIENSEN, 2016).

Uma forma para otimizar a produção de biomassa é agregar o efluente proveniente do tratamento anaeróbico de esgoto doméstico a partir de reator UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) aos meios de culturas sintéticos das microalgas,

já que o efluente apresenta grande carga de nutrientes, como fósforo e nitrogênio, uma vez que processos de digestão anaeróbia apresentam esse aspecto, além de possuir uma baixa concentração de oxigênio dissolvido (ALMEIDA et al, 2018), fatores que podem provocar eutrofização dos corpos hídricos impossibilitando sua deposição no meio ambiente.

Além de adequar-se como substrato, o efluente ainda pode passar por um processo de biorremediação, visto que uma das características do metabolismo microalgal é a capacidade de converter tanto nutrientes como metais pesados em compostos mais sustentáveis (DIAS et al., 2019).

Nessa perspectiva, o presente trabalho visa avaliar o potencial lipídico para geração de biocombustíveis e de biorremediação de três espécies de microalgas – *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acuminatus* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER – cultivadas em efluentes de tratamento anaeróbio de esgoto doméstico..

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Cultivo das microalgas

Foram avaliadas três espécies de microalgas: *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acuminatus* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER.

O cultivo da *Chlorella vulgaris* foi realizado no meio sintético Bold's Basal Medium (BBM), recomendado pelo *Culture Collection of Algae and Protozoa* (CCAP) de Cambridge. A *Scenedesmus acuminatus* foi cultivada no meio *Wright's Cryptophyte* (WC), desenvolvido por Guillard e Lorenzen (1972). Já o cultivo da *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER foi efetuado em meio F/2, desenvolvido por Guillard (1975).

Cada cultivo teve duração total de 192 horas e foi conduzido em ambiente climatizado a 26°C±2, onde controlou-se a disponibilidade luminosa

por meio de lâmpadas com potência fixa de 40 W. Para as montagens dos sistemas foram utilizados Erlenmeyers de 500 mL, acoplados a aeradores para favorecer a homogeneização e oxigenação dos cultivos.

## 2.2 Variação das condições do cultivo

A variação dos parâmetros influenciadores no desenvolvimento das microalgas ocorreu em quatro etapas. A princípio, foi avaliada a influência da luminosidade, utilizando intervalos de 6, 12, 18 e 24 horas de luz diária, determinando-se um período ótimo de exposição. Nessa fase não houve alteração do pH dos meios.

Na segunda etapa foram mantidas as condições ideais de tempo de exposição à luz para cada microalga, determinadas na fase anterior, e realizou-se a variação do pH inicial dos cultivos na faixa entre 5,5 e 8,5 (em intervalos de 1,0), fazendo uso das soluções de ácido clorídrico e hidróxido de sódio para a mudança de pH. Além disso, realizaram-se cultivos sem alteração do pH dos meios WC, BBM e F/2, sendo 9,0; 7,0 e 7,23; respectivamente.

A terceira etapa da pesquisa consistiu na suplementação dos cultivos com efluente doméstico tratado em reator UASB, em diferentes proporções com relação aos meios sintéticos. Foram adotadas as proporções de 20, 30, 50, 70, 80 e 100% para *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus acuminatus* e de 25, 50, 75 e 100% para a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER.

Por fim, na quarta e última etapa, foi realizada a extração dos lipídios nos cultivos que apresentaram melhor adaptabilidade das microalgas à suplementação de efluente de reator UASB, bem como dos cultivos conduzidos apenas com os meios sintéticos (WC, BBM e F/2).

## 2.3 Parâmetros avaliados

O crescimento microalgal foi estimado por meio de contagens a cada 24 horas, durante as 192 horas de cultivo, realizadas em triplicata nas câmaras de Neubauer com o microscópio óptico, e expresso em células.mL<sup>-1</sup>. Além disso, foram determinados os parâmetros cinéticos velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) e tempo de geração ( $t_g$ ), calculados pelas Eq. 1 e 2, respectivamente.

$$\mu_{\text{máx}} = \frac{\ln(x) - \ln(x_i)}{(t - t_i)} \quad (1)$$

$$t_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{\text{máx}}} \quad (2)$$

Onde:  $\mu_{\text{máx}}$  = velocidade específica máxima de crescimento (h<sup>-1</sup>); x = concentração celular (células.mL<sup>-1</sup>);  $x_i$  = concentração celular inicial (células.mL<sup>-1</sup>);  $t_i$  = tempo inicial referente à fase exponencial (h); t = tempo final referente à fase exponencial (h); e  $t_g$  = tempo de geração (h).

A produtividade de biomassa foi determinada por alíquotas de 50 mL colhidas no primeiro e no último dia de cultivo, centrifugadas a uma rotação de 4000 rpm durante 8 minutos. O sedimentado foi colocado em cápsulas de porcelana, levado para estufa a 55°C e mantido até remoção total da umidade. A produtividade foi definida como a razão entre a diferença da biomassa seca final e inicial pelo tempo de cultivo, expressa por g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>.

Para os cultivos acrescidos de efluente de reator UASB, foi verificado o potencial de biorremediação das microalgas. Para isso, foi utilizada a DQO, determinada pelo método titulométrico por refluxo conforme descrito pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*

(APHA; AWWA; WPCF, 2012) e o resultado foi expresso em termos de remoção, conforme a Eq. 3.

$$\%DQO = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \times 100 \quad (3)$$

Onde: %DQO é a eficiência ou percentual de remoção de DQO pelo cultivo;  $DQO_i$  e  $DQO_f$  os valores de DQO no início e no final do cultivo (em  $\text{mg.L}^{-1}$ ), respectivamente.

## 2.4 Quantificação do teor lipídico

Para análise do teor lipídico utilizaram-se fotobiorreatores de 10 L, fazendo suplementação dos cultivos com meio de cultura e efluente de reator UASB, obtendo-se biomassa seca por meio dos processos de centrifugação e secagem descritos anteriormente.

Os lipídios foram determinados por meio da metodologia adaptada por Folch, Lees e Sloane Stanley (1957), que consiste em submeter amostras de 2 g de biomassa seca à extração por meio de uma mistura de clorofórmio e metanol (2:1) seguida de evaporação do solvente em estufa a 105°C. Devido à resistência da parede celular das microalgas, a metodologia foi adaptada e a esta introduziu-se uma etapa de rompimento celular, com o uso de banho ultrassônico. O teor de lipídios foi quantificado pela Eq. 4.

$$\% \text{ Lipídio} = \frac{V_{\text{finf}} (M_f - M_i)}{5M} \quad (4)$$

Onde:  $V_{\text{finf}}$  é o volume do extrato da fase inferior;  $M_f$  a massa final do béquer com lipídios;  $M_i$  a massa do béquer seco; e  $M$  a massa da amostra.

## 2.5 Análise estatística

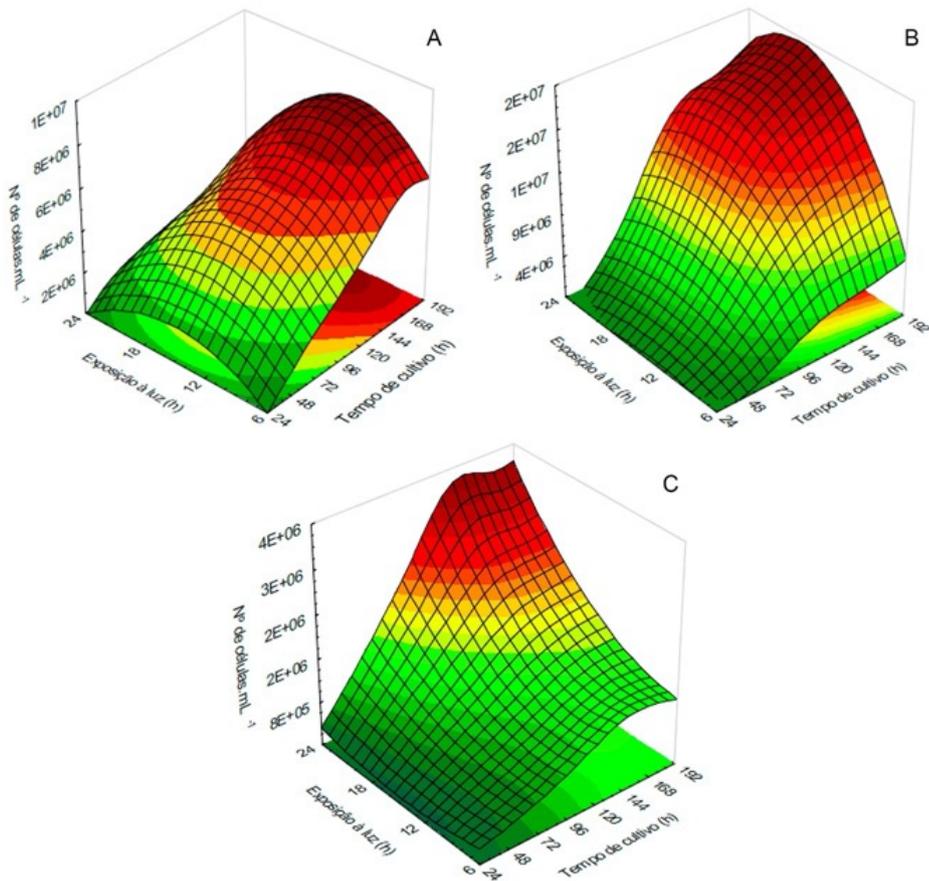
A diferença entre a produtividade das espécies de microalgas para os experimentos de luminosidade, pH e suplementação com efluente de UASB, bem como suas respectivas remoções de DQO, foi avaliada a partir da análise de variância (ANOVA), quando observada normalidade dos dados, e pelo teste Kruskal-Wallis (KW-H), uma vez que não foi verificada uma distribuição normal dos dados. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilks. Quando detectadas diferenças significativas entre as espécies, aplicou-se o teste de comparação múltipla de Tukey a um nível de significância de 5%. Para essas análises foi utilizado o software Statistica 12.0 (STATSOFT, 2011).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Cultivos com diferentes tempos de exposição à luminosidade

A Fig. 1 apresenta o crescimento das microalgas nos diferentes tempos de exposição à luminosidade. Verificou-se que os cultivos com menor tempo de exposição apresentaram maior fase estacionária, que corresponde a um lento crescimento nos primeiros dias após o inóculo, uma vez que as microalgas apresentam maior crescimento na presença de maiores períodos de iluminação (CHIRANJEEVI; MOHAN, 2016).

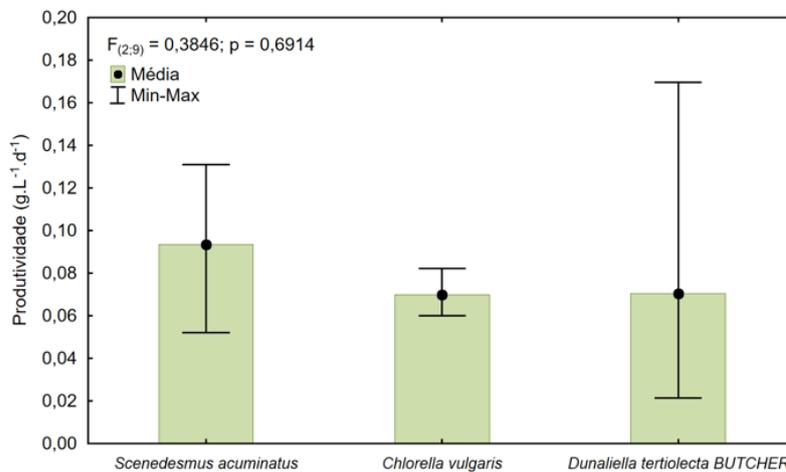
Para a *Chlorella vulgaris* e a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, as exposições de 12, 18 e 24 h à luz proporcionaram um rápido desenvolvimento exponencial, diferentemente da *Scenedesmus acuminatus*, que apresentou expresso crescimento celular nas exposições a 12 e 18 h.



**Figura 1** - Crescimento da *Scenedesmus acuminatus* (A), *Chlorella vulgaris* (B) e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER (C) nos cultivos com diferentes tempos de exposições à luminosidade

Em relação à produtividade microalgal, a *Scenedesmus acuminatus* apresentou maiores valores médios, seguido pela *Chlorella vulgaris* e a *Dunaliella tertiolecta*

BUTCHER. No entanto, não foi observada diferença significativa entre as microalgas ( $F(2;9) = 0,384$ ,  $p = 0,6914$ ), como pode ser observado na Fig. 2.



**Figura 2** - Variação da produtividade de biomassa da *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER nos cultivos com diferentes tempos de exposições à luminosidade

A *Scenedesmus acuminatus* atingiu a produtividade de  $0,1311 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  quando cultivada em 24 h de exposição, onde observaram-se os melhores resultados para  $\mu_{\text{máx}}$  e  $t_g$ ,  $0,0420 \text{ h}^{-1}$  e 16,50 h, respectivamente. A *Chlorella vulgaris* obteve maior produtividade ( $0,0844 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) quando exposta a 12 h de luz, com  $\mu_{\text{máx}}$  de  $0,0517 \text{ h}^{-1}$  e  $t_g$  igual a 13,41 h. A *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER também apresentou maior produtividade ( $0,1697 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) no intervalo de 12 h; contudo, a maior  $\mu_{\text{máx}}$  ( $0,0292 \text{ h}^{-1}$ ) e menor  $t_g$  (23,74 h) foram observadas no cultivo de 18 h de exposição à luminosidade.

Para as três espécies, o intervalo de 6 h de luz influenciou negativamente a produtividade, evidenciando a natureza autotrófica das mesmas. Isso foi constatado a partir do retardo na  $\mu_{\text{máx}}$  e da elevação do  $t_g$ . Apesar disso, a *Chlorella vulgaris* e a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER apresentaram baixas produtividades quando expostas ao fotoperíodo de 24 h por ocorrência da fotoinibição, como evidenciado por Yeesang e Cheirsilp (2011), que ao avaliarem parâmetros influenciadores na produção lipídica de microalgas, constataram que, em alta intensidade luminosa e condições ricas em nitrogênio, a fotossíntese é interrompida devido à fotoinibição, prejudicando a produtividade das mesmas.

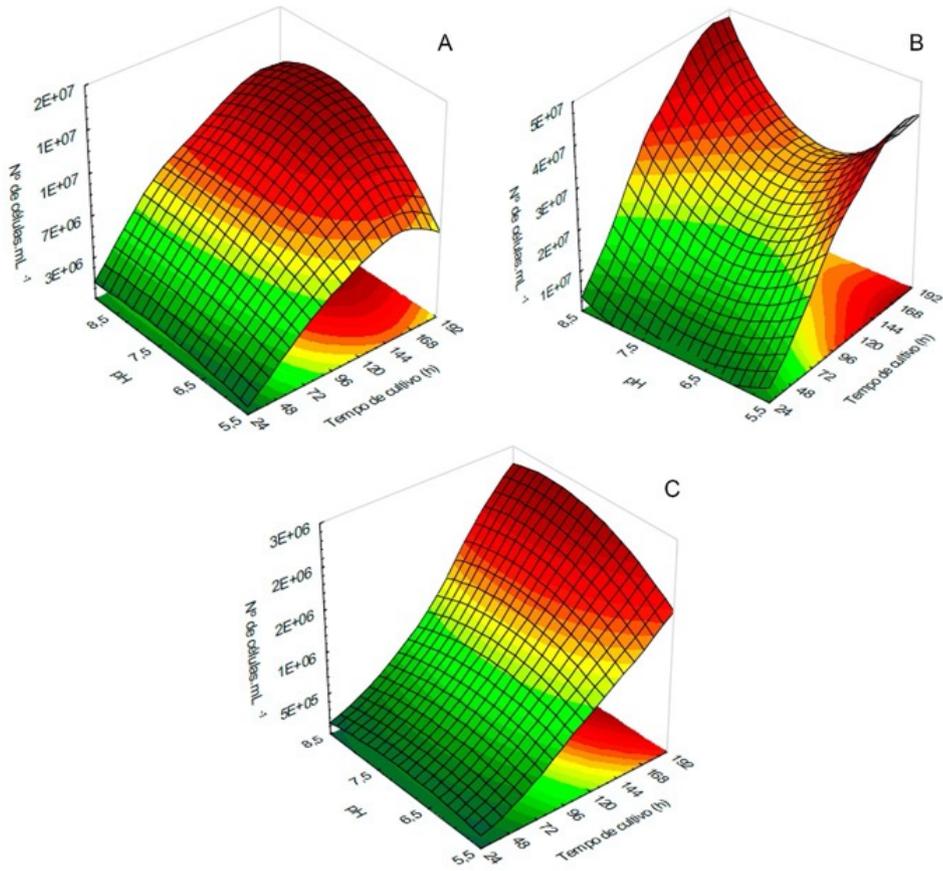
Considerando o tempo médio de luz solar no Nordeste brasileiro como sendo 12 h por dia (ANEEL, 2002), adotou-se esse fotoperíodo como o ideal para o cultivo das três espécies de microalgas nas etapas subsequentes, uma vez que a *Scenedesmus acuminatus* foi favorecida nesse tempo de exposição, apresentando produtividade de  $0,0956 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ , assim como a *Chlorella vulgaris* e a *Dunaliella tertiolecta*, que também apresentaram melhores resultados nesse intervalo. Além disso, a escolha desse tempo de exposição minimiza os custos do processo, já que não de-

manda a utilização de iluminação artificial para os cultivos em escala industrial.

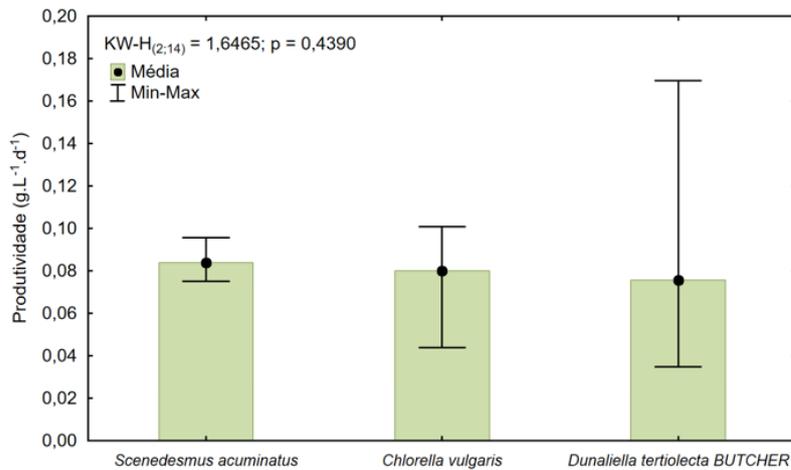
### 3.2 Cultivos com variação de pH

Os resultados do crescimento celular para os cultivos com variação de pH e 12 h de exposição à luminosidade podem ser observados na Fig. 2. Percebe-se que nos cultivos com pH abaixo da neutralidade, favoreceu-se o crescimento apenas da *Chlorella vulgaris*, diferentemente de quando submetidas a cultivos alcalinos, onde obteve-se satisfatório desenvolvimento celular para todas as espécies. Segundo Costa (2018), as microalgas podem alterar o pH do meio, tornando-o adequado para melhores desenvolvimentos. Esse ajuste depende da espécie e pode ocorrer para pH básico, comportamento observado neste estudo para a *Dunaliella tertiolecta* e a *Scenedesmus acuminatus*, como também para pH ácido, condição evidenciada pela *Chlorella vulgaris*.

A produtividade média para os cultivos com variação de pH foi similar para as três espécies, em torno de  $0,08 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  (Fig. 4), não sendo observada diferença significativa ( $p = 0,439$  e  $\text{KW-H}_{(2;14)} = 1,646$ ). No entanto, a *Scenedesmus acuminatus* teve maior produção de biomassa ( $0,0956 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) no cultivo com pH 9,0 (natural do meio). Suas maiores  $\mu_{\text{máx}}$  foram de  $0,0374$  e  $0,0360 \text{ h}^{-1}$  e menores  $t_g$  de 18,53 e 19,25h para os pH de 8,5 e 9,0, respectivamente. A *Chlorella vulgaris*, embora tenha apresentado a produtividade de  $0,0942 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  no cultivo com pH 6,5, apresentou  $t_g$  elevado (18,19 h) quando comparado com o cultivo de pH 7,0 (natural do meio) ( $t_g = 13,41 \text{ h}$ ), sendo observada uma produtividade de  $0,0823 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ . O cultivo com pH 6,5 intensificou a  $\mu_{\text{máx}}$  e reduziu o  $t_g$  da *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, porém a maior produção de biomassa foi de  $0,1697 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  no cultivo em pH 7,23 (natural do meio).



**Figura 3** - Crescimento da *Scenedesmus acuminatus* (A), *Chlorella vulgaris* (B) e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER (C) nos cultivos com variação de pH



**Figura 4** - Variação da produtividade de biomassa da *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER nos cultivos com variação de pH

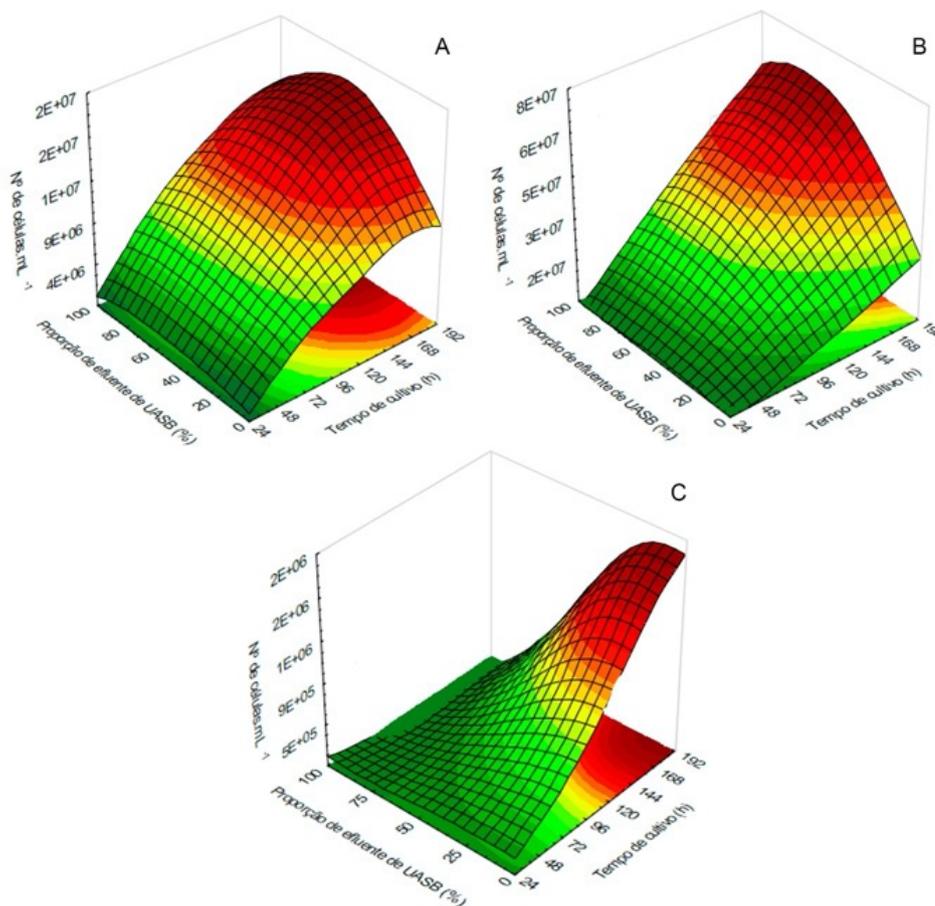
De forma geral, os cultivos sem alteração de pH apresentaram excelentes produtividades de

biomassa; assim sendo, definiu-se como condição ótima de cultivo para cada microalga os

pH 9,0, 7,0 e 7,23 para a *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris*, e *Dunaliella tertiolecta*, respectivamente, com 12 horas de exposição à luminosidade.

### 3.3 Cultivos com suplementação de efluente de reator UASB e potencial de biorremediação das microalgas

Na terceira etapa, os cultivos foram suplementados com efluentes de reator UASB. O crescimento celular das microalgas é apresentado na Fig. 5.



**Figura 5** - Crescimento da *Scenedesmus acuminatus* (A), *Chlorella vulgaris* (B) e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER (C) nos cultivos com suplementações de efluente de reator UASB

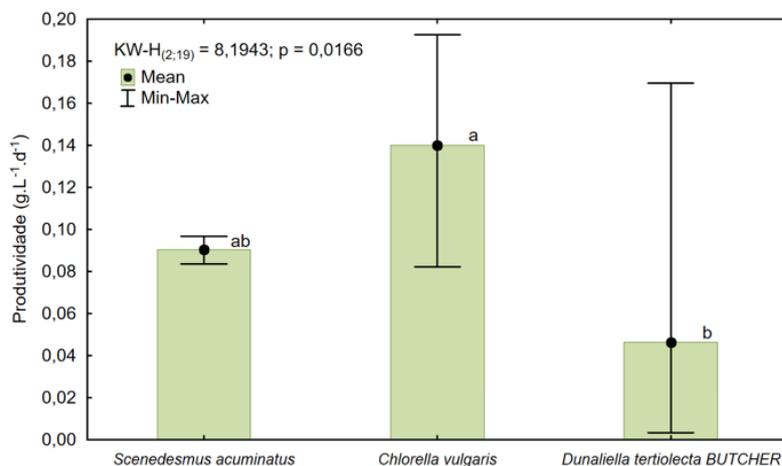
Conforme ilustrado na Fig. 5, as espécies *Scenedesmus acuminatus* e *Chlorella vulgaris* apresentaram desenvolvimento satisfatório, inclusive para a condição de 100% de efluente. Isso evidencia a disponibilidade de componentes necessários para o crescimento das microalgas (CHO et al., 2011), que se adaptaram ao efluente de reator UASB. Do mesmo modo, Torres (2014) ao cultivar a *Chlorella* sp. nesse meio alternativo, observou ótima adaptação

de crescimento da espécie, justificada pela rápida multiplicação do número de células sem interferências ou possíveis limitações presentes no efluente. Frigon et al. (2013), ao cultivarem *Scenedesmus* sp.-AMDD em águas residuárias de esgoto doméstico com objetivo de avaliar a produção de metano a partir de microalgas, também evidenciaram o potencial desse gênero em relação às demais espécies estudadas na pesquisa, devido a sua facilidade de cultivo

e elevados rendimentos de biomassa, como observado no presente estudo.

Por outro lado, a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER teve seu crescimento inibido com o aumento da proporção de efluente, e isso pode ser atribuído ao fato de a matéria orgânica contida no efluente ser de complexa assimilação. Além disso, por ser uma microalga de natureza salina, seu desenvolvimento pode ser dificultado ao acrescentar o efluente, uma vez que é necessária uma salinidade ideal de 30 ppt do meio para seu crescimento (LIU; YILDIZ, 2018).

Em relação à produtividade de biomassa para os cultivos com suplementação de efluente de reator UASB, foi observado que há diferença significativa entre as espécies ( $p = 0,017$  e  $KW-H_{(2;19)} = 8,194$ ). As microalgas *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER diferem entre si (teste de Tukey,  $p > 0,05$ ), com valores médios de produtividade de  $0,1400$  e  $0,0462 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , respectivamente (Fig. 6). Por sua vez, a *Scenedesmus acuminatus* não apresentou diferença significativa com as demais espécies.



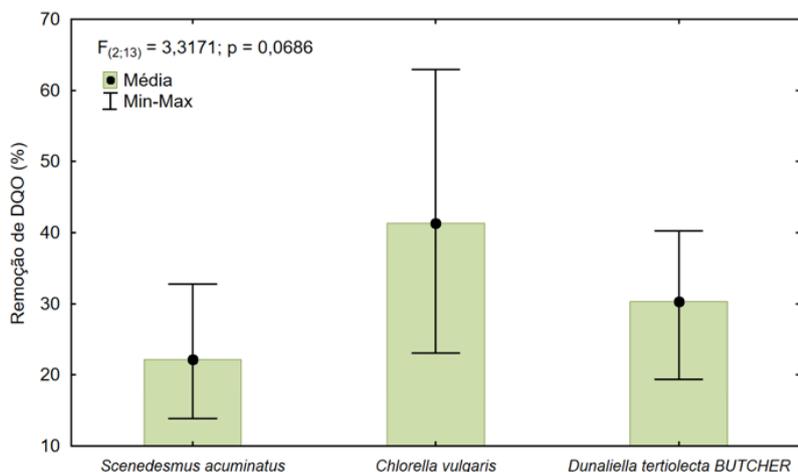
**Figura 6** - Variação da produtividade de biomassa da *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER nos cultivos com suplementação de efluente de reator UASB

Espécies com a mesma letra não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A adição de efluente de reator UASB não ocasionou mudanças substanciais nos parâmetros  $\mu_{\text{máx}}$  e  $t_g$  da *Scenedesmus acuminatus* e da *Chlorella vulgaris*, o que corrobora a adaptação dessas espécies ao meio alternativo. A *Chlorella vulgaris* obteve produtividades superiores às de quando cultivada apenas em meio sintético. Por outro lado, ao passo que se adicionou efluente de reator UASB, constatou-se a inadaptabilidade da espécie *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, que gerou a diminuição da  $\mu_{\text{máx}}$  ( $0,0048 \text{ h}^{-1}$ ) e aumento do  $t_g$  ( $144,41 \text{ h}$ ) em cultivo com 100% de efluente.

O potencial de biorremediação das microalgas foi avaliado por meio da remoção de DQO, sen-

do observadas maiores remoções em suplementação de 80% de efluente para a *Scenedesmus acuminatus*, onde ocorreu 32,80% de remoção de DQO. A *Chlorella vulgaris*, quando cultivada em 50% de efluente, removeu 62,95% da carga orgânica, e a *Dunaliella tertiolecta* em 25% do efluente removeu 40,23%. No entanto, não foi verificada diferença significativa para a remoção de DQO entre as microalgas ( $p = 0,068$  e  $F_{(2;13)} = 3,317$ ), conforme a Fig. 7. Isso implica que as microalgas apresentam similares potenciais de biorremediação de carga orgânica contida em efluentes domésticos tratados em reator UASB.



**Figura 7** - Variação da remoção de DQO para a *Scenedesmus acuminatus*, *Chlorella vulgaris* e *Dunaliella tertiolecta BUTCHER* nos cultivos com suplementação de efluente de reator UASB

Destaca-se que, por se tratar de um efluente de pós-tratamento, a carga orgânica contida no meio é de complexa remoção, pois a matéria orgânica de fácil degradação é removida a partir da atividade de bactérias no processo de tratamento com reator UASB, restando produto mineralizado de difícil assimilação por microrganismos (VON SPERLING, 2016). Apesar disso, percebe-se o potencial de biorremediação das microalgas, principalmente da *Chlorella vulgaris* com remoção superior a 60% de DQO.

Herrera et al. (2018) explicitaram que a *Chlorella vulgaris* removeu de 64,99 a 81,80% da matéria orgânica contida em água residuárias de esgoto doméstico; já Gómez e Giraldo (2016), ao utilizarem essa espécie para o tratamento de vinhaça, perceberam uma remoção de 30,92%. Nota-se que os resultados de Herrera et al. (2018) foram mais próximos do percebido neste estudo, uma vez que esses autores também utilizaram água residuária como meio alternativo.

Por fim, utilizando como critérios de escolha da condição ótima para os cultivos com suplementação de efluente de reator UASB a maior produtividade de biomassa e remoção de DQO em um curto intervalo de tempo, fazendo uso do máximo

de efluente possível, foram definidas as seguintes condições ideais para cada microalga: *Scenedesmus acuminatus* em efluente de reator UASB puro, a *Chlorella vulgaris* em 50% do efluente e a *Dunaliella tertiolecta BUTCHER* em 25%.

### 3.4 Produção lipídica

Os cultivos que configuraram condição ótima na etapa de suplementação de efluente de reator UASB para cada microalga seguiram para o processo de extração lipídica, bem como os cultivos realizados nos meios sintéticos puros.

A *Scenedesmus acuminatus* apresentou 11,0% de conteúdo lipídico quando cultivada no meio WC e 10,42% para cultivo em 100% de efluente de reator UASB. Já a *Chlorella vulgaris* desenvolveu teores de 14,70% em BBM e 18,14% em cultivo contendo 50% de efluente de reator UASB. A *Dunaliella tertiolecta BUTCHER* acumulou 10,64% de lipídios para o cultivo com meio F/2 puro e 8,13% quando adicionados 25% de efluente.

Almeida (2011) afirma que o crescimento da biomassa microalgal ocasiona aumento da produção lipídica e que este está intimamente ligado a alterações na concentração de nutrientes

presentes no meio. No entanto, uma maior porcentagem de lipídios foi observada nos cultivos desenvolvidos em meios sintéticos, quando comparados aos suplementados com efluente de reator UASB, exceto para a *Chlorella vulgaris*, que demonstra adaptabilidade a condições adversas (50% de efluente de reator UASB), conferindo a característica de sintetizar os nutrientes contidos nos efluentes anaeróbios.

Rosales, Rodríguez e Ballen-Segura (2018), ao analisarem o crescimento da *Scenedesmus sp.* em águas residuárias de curtumes, obtiveram uma produção lipídica de 28,82%, resultado acima do atingido neste estudo em decorrência do efluente utilizado ser de natureza industrial. Já Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010), ao cultivarem *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* em um fotobiorreator tratando águas residuárias domésticas, alcançaram porcentagem lipídica entre 10-11%. Fré (2016), ao cultivar a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER no meio F/2, obteve 10,21%, resultado semelhante ao atingido neste trabalho devido ao fato de o cultivo também ter sido feito em meio sintético que apresenta alta salinidade.

#### 4 CONCLUSÕES

Ao considerar como critérios maior velocidade específica, menor tempo de geração, elevado desenvolvimento celular, boa evidência em termos do teor lipídico e capacidade para biorremediação, percebeu-se que a *Chlorella vulgaris* tem características que a tornam mais aplicável em cultivos com efluente de reator UASB.

Embora a *Scenedesmus acuminatus* apresente comportamento e resultados semelhantes ao da *Chlorella vulgaris*, o discreto conteúdo lipídico quantificado e o baixo potencial de biorremediação explicitaram que essa espécie possui limitações para este tipo de cultivo.

O mesmo pode ser afirmado para a *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER que, no geral, apresentou discreto desempenho devido à dificuldade de assimilação dos nutrientes contidos no efluente de reator UASB, além da baixa salinidade contida neste meio alternativo, ao passo que esta espécie possui natureza salina.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Referência em Tecnologias de Águas (LARTECA) vinculado ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), onde desenvolveu-se a pesquisa, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

#### 6 CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

**Conceitualização:** Soares EJS, Costa AMM, Silva NF, Santos WB; **Metodologia:** Soares EJS, Costa AMM, Silva NF, Santos WB; **Investigação:** Soares EJS, Costa AMM, Silva NF, Santos WB; **Redação - Primeira versão:** Soares EJS, Costa AMM; **Redação - Revisão & Edição:** Santos WB, Lopes TSA, Sousa LCO, Ferreira WB; **Recursos:** Ferreira WB; **Supervisão:** Ferreira WB.

#### 7 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. G. S.; RIBEIRO, T. B.; SILVA, B. S.; AZEVEDO, L. S.; CHERNICHARO, C. A. L. Contribuição para o aprimoramento de projeto, construção e operação de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto sanitário – Parte 6: Qualidade do efluente. *DAE*. v. 66, n. 24, p. 90 – 108, 2018. <https://doi.org/10.4322/dae.2018.043>
- ALMEIDA, R. E. O. **Efeito das condições ambientais na produtividade lipídica da *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, 2011.
- ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica). **Atlas de energia elétrica do Brasil**. Brasília: ANEEL, 2002. Disponível em: [http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/livro\\_atlas.pdf](http://www2.aneel.gov.br/arquivos/pdf/livro_atlas.pdf). Acesso em: 23 jul. 2020.

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2012.

CHIRANJEEVI, P.; MOHAN, S. Venkata. Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing biomass growth with simultaneous lipid productivity. **Renewable Energy**, 2016. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.063>

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. v.102, p. 8639-8645. 2011. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.037>

COSTA, M. H. J. **Cultivo de microalgas em efluente da piscicultura visando a obtenção de biomassa com potencial proteico para aplicação em ração animal**. 65f. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

DIAS, G., et al. Biorremediação de efluentes por meio da aplicação de microalgas-uma revisão. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 891-899, 2019. <https://doi.org/doi.org/10.21577/0100-4042.20170393>

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J. Biol. Chem.** v. 226, n. 1, p.497-509, 1957.

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

FRÉ, N. C. **Influência das condições de cultivo da microalga Dunaliella tertiolecta BUTCHER na produção de carotenoides e lipídios**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

FRIGON, J.; MATTEAU-LEBRUN, F.; ABDU, R. H.; MCGINN, P. J.; O'LEARY, S.; GUIOT, S. R. Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. **Applied Energy**. v. 108. p. 100-107, 2013. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.02.051>

GÓMEZ, E. A. O.; GIRALDO, M. J. V. **Evaluación del uso de la microalga Chlorella vulgaris en el tratamiento de aguas industriales (Vinazas)**. 30f. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia, 2016.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, WL & MH CHANLEY (Eds.) **Culture of Marine Invertebrate Animals**. 3. ed. New York: Plenum, p. 29-60, 1975.

GUILLARD, Robert RL; LORENZEN, Carl J. Yellow-green algae with chlorophyllide c12. **Journal of Phycology**, v. 8, n. 1, p. 10-14, 1972. <https://doi.org/doi.org/10.1111/j.1529-8817.1972.tb03995.x>

HERRERA, J. A. S.; MALO, B. O. M.; ARÉVALO, J. C. C.; FERNÁNDEZ, D. R. Evaluación a nivel laboratorio de la capacidad de remoción

de materia orgánica de Chlorella vulgaris en las aguas residuales de la PTAR Salitre. **Journal of the Faculty of Sciences and Engineering**, v. 8, n. 1, p. 34-42, 2018. <https://doi.org/doi.org/10.21789/22561498.1368>

LIU, Y.; YILDIZ, I. The effect of salinity concentration on algal biomass production and nutrient removal from municipal wastewater by Dunaliella salina. **International Journal Energy Research**, v. 42, n. 9, p. 1-10, 2018. <https://doi.org/doi.org/10.1002/er.3967>

MATTHIENSEN, A. Tratamento de dejetos suínos com microalgas. In: **Agroenergia em revista: microalgas**. 10. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2016. p. 26-31.

NASCIMENTO, R. C. et al. Avaliação do cultivo de microalgas em fotobiorreatores de placas planas para a produção de biomassa e biorremediação de efluente da agroindústria de óleo de palma. In: Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia, 3., 2016, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa, 2016, p. 103-109.

NICOLAU, P. B. Microrganismos e crescimento microbiano. **REA - Ciências da Vida, Ambiente e Sustentabilidade**. 2014

ROSALLES, A. G.; RODRÍGUEZ, C. D.; BALLEEN-SEGURA, Y. M. Remoción de contaminantes y crecimiento del alga Scenedesmus p. en aguas residuales de curtiembres, comparación entre células libres e inmovilizadas. **Ingeniería y ciencia**. v. 14, n. 28, p. 11-34, 2018. <https://doi.org/doi.org/10.17230/ingciencia.14.28.1>

RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L. G.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**. v. 101, n. 1, p. 58-64, 2010. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.076>

SANTOS, B. **Estratégias para aumentar a produtividade de biomassa de microalgas com carbono orgânico**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SRIRAM, S.; SEENIVASAN, R. Microalgae Cultivation in Wastewater for Nutrient Removal. **Journal of Algal Biomass Utilization**. v. 3, n. 2, p. 9- 13, 2012.

STATSOFT, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

TORRES, H.S.J. **Cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto**. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental). Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 2014.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgoto. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**, v. 2. 2. ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016. 211 p.

YEESANG, C.; CHEIRSILP, B. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. **Bioresource Technology**. v. 102, p. 3034-3040, 2011. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.013>