



Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"
Programa Interunidades



Mestrado

Engenharia Civil e Ambiental

THALITA LACERDA DOS SANTOS

**BIORREMEDIAÇÃO DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E METAIS POR
COMUNIDADE NATIVA DE MICROALGAS E BACTÉRIAS EM
EFLUENTE TRATADO ANAEROBIAMENTE**

Bauru
2022



THALITA LACERDA DOS SANTOS

**BIORREMEDIAÇÃO DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E METAIS POR
COMUNIDADE NATIVA DE MICROALGAS E BACTÉRIAS EM
EFLUENTE TRATADO ANAEROBIAMENTE**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Área de Concentração Saneamento.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva

Co-orientadora: Tânia Vasconcelos Fernandes

Bauru
2022

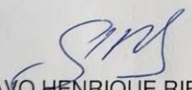


ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado de THALITA LACERDA DOS SANTOS, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL, DA FACULDADE DE ENGENHARIA - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 18 dias do mês de novembro do ano de 2022, às 14:30 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE Mestrado de THALITA LACERDA DOS SANTOS, intitulada **BIORREMEDIAÇÃO DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E METAIS POR COMUNIDADE NATIVA DE MICROALGAS E BACTÉRIAS EM EFLUENTE TRATADO ANAEROBIAMENTE**. A

Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE RIBEIRO DA SILVA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Engenharia Civil e Ambiental / Faculdade de Engenharia de Bauru UNESP, Profa. Dra. MARIA DE LOURDES FLORENCIO DOS SANTOS (Participação Virtual) do(a) Engenharia Civil e Ambiental / Universidade Federal de Pernambuco, PROFESSOR ADJUNTO MARC ÁRPÁD BONCZ (Participação Virtual) do(a) Departamento de Hidráulica e Transportes / UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA

_____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE RIBEIRO DA SILVA

S237b Santos, Thalita Lacerda dos
Biorremediação de nitrogênio, fósforo e metais por comunidade nativa de microalgas e bactérias em efluente tratado anaerobiamente / Thalita Lacerda dos Santos. -- Bauru, 2023
149 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Engenharia, Bauru
Orientador: Gustavo Henrique Ribeiro da Silva
Coorientadora: Tânia Vasconcelos Fernandes

1. Engenharia Ambiental. 2. Microalgas nativas. 3. Remoção de nutrientes. 4. Biorremediação. 5. Culturas mistas de microalgas e bactérias. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Engenharia, Bauru. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Para Loriza e Luiza, meus amores.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gustavo Henrique Ribeiro da Silva, a quem sempre admirei à distância e com quem pude desfrutar momentos enriquecedores, agradeço a orientação deste trabalho. À Prof. Dra. Tânia Vasconcelos Fernandes, pela co-orientação, ensinamentos e dedicação.

À Banca de Qualificação, composta pela Profa. Dra. Maria de Lourdes Florencio dos Santos e Prof. Dr. Cesar Rossas Mota Filho, pelas críticas e sugestões apresentadas.

À CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

À UNESP, pelo acolhimento e pela qualidade institucional.

Ao DAE Bauru e aos servidores técnicos do Laboratório de Saneamento da Unesp, pela ajuda relevante.

Aos colegas de pós-graduação do Programa de Engenharia Civil e Ambiental, em especial à Dra. Anna Patricya Florentino pela apresentação do tema em pauta e ao aluno de iniciação científica Francisco de Alcântara Junior que contribuiu em momentos importantes da pesquisa.

Aos amigos mais queridos: Micaías e Hortência pela trilha sonora desta jornada, Luciana pela motivadora troca de figurinhas acadêmicas, Laurence e Rondinaldo pelo exemplo profissional, Rafael pela companhia no bosque da evolução e Pedro por todas as parcerias acadêmicas.

A todos os amigos e colegas, que embora não citados nominalmente, significaram apoio ao longo desta importante etapa.

Ao Sato que chegou devagarinho e me chamou para dançar.

Ao Zeus por me fazer sorrir.

E agradeço de maneira muito especial o apoio, o incentivo e o amor das pessoas mais importantes de minha vida:

À minha amiga Débora, companheira de todas as horas;

Ao meu pai de coração André, por sempre acreditar nos meus projetos;

À minha vó Luiza, exemplo de doçura e força;

À minha mãe Loriza, por quem e com quem tudo é possível realizar.

Resumo

As atividades humanas e industriais alteram a qualidade dos corpos hídricos, causando diversos danos ambientais, a exemplo da eutrofização. A recuperação de nutrientes e os processos de biorremediação de metais são temas de pesquisa cada vez mais frequentes e as microalgas exercem um papel de destaque, sendo uma ótima alternativa para as abordagens atuais do saneamento. Neste contexto, o principal objetivo deste trabalho foi estudar diferentes condições de crescimento de uma comunidade mista nativa de microalgas e bactérias em esgoto sanitário tratado por filtro biológico anaeróbio de fluxo ascendente, com vistas às atividades de biorremediação de nutrientes e metais pesados, utilizando o referido efluente como fonte de nutrientes, reduzindo seu potencial poluidor em corpos receptores e possibilitando futuros usos mais vantajosos nas perspectivas econômica e ambiental. O estudo foi executado em escala laboratorial, em reatores cilíndricos de 2L e iluminação artificial através de lâmpadas de LED. A Etapa 1 avaliou o impacto do enriquecimento do ar comprimido com CO₂ (5 e 10%). O enriquecimento com 5% de CO₂ forneceu as melhores taxas, com 96,5% de remoção de fósforo total em 4 dias e uma taxa de produção de biomassa de 0,04 g.L⁻¹.dia⁻¹. A Etapa 2 foi realizada com ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂ e avaliou o impacto da variação da intensidade luminosa (154 ± 2; 211 ± 3 e 304 ± 3 μmol.m⁻².s⁻¹). O experimento com maior intensidade luminosa obteve as melhores taxas, com 97,1% de remoção de fósforo total em 2 dias e a taxa de produção de biomassa de 0,31 g.L⁻¹.dia⁻¹. A Etapa 3 foi realizada com ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂, intensidade luminosa de 211±3 μmol.m⁻².s⁻¹ e temperatura de 38±5 °C com 97,2% de remoção de fósforo total em 2 dias e a taxa de produção de biomassa de 0,29 g.L⁻¹.dia⁻¹. Com base nos resultados obtidos foi possível inferir que a cultura apresenta excelente capacidade de remoção de nutrientes em efluente anaeróbio e boa tolerância às variações de temperatura e intensidade luminosa podendo ser uma alternativa para pós-tratamento em escala real. A comunidade não apresentou significativa remoção de metais pesados.

Palavras-chave: cultura mista, microalgas nativas, remoção de nutrientes, biorremediação de metais.

Abstract

Human and industrial activities decrease the quality of water bodies, causing environmental damage such as eutrophication. Nutrient recovery and metal bioremediation processes are increasingly frequent topics in research and microalgae have a prominent role, being a great alternative to contemporary approaches to sanitation. In this context, the main objective of this work was to study different growth conditions of a native consortium of microalgae and bacteria from sanitary sewage treated by an upflow anaerobic biological filter, with a view to bioremediation activities of nutrients and heavy metals, using this effluent as a source of contaminants, reducing its polluting potential in receiving bodies and allowing more advantageous future uses from an economic and environmental perspectives. The study was carried out on a laboratory scale, in 2L cylindrical reactors and artificial lighting through LED lamps. Round 1 evaluated the impact of enriching the compressed air with CO₂ (5 and 10%). Enrichment with 5% CO₂ provided the best rates, with 96.5% total phosphorus removal in 4 days and a biomass production rate of 0.04 g.L⁻¹.day⁻¹. Round 2 was performed with compressed air enriched with 5% CO₂ and evaluated the impact of light intensity variation (154±2; 211±3 and 304±3 μmol.m⁻².s⁻¹). The experiment with the highest light intensity had the best rates, with 97.1% of total phosphorus removal in 2 days and a biomass production rate of 0.31 g.L⁻¹.day⁻¹. Round 3 was carried out with compressed air enriched with 5% CO₂, light intensity of 211 ± 3 μmol.m⁻².s⁻¹ and temperature of 38±5 °C with 97.2% of total phosphorus removal in 2 days and the biomass production rate of 0.29 g.L⁻¹.day⁻¹. Based on the results obtained, it was possible to infer that the native consortium of microalgae and bacteria has an excellent ability to remove nutrients in anaerobic effluent and good tolerance to variations in temperature and light intensity, which can be an alternative for post-treatment on a full scale. The native consortium did not present significant removal of heavy metals.

Key words: microalgae consortium, native microalgae, nutrient removal, metal bioremediation.

Índice de Figuras

Figura 1 – Fluxograma da ETE Tibiriçá.....	26
Figura 2 – Fluxograma da configuração experimental.....	29
Figura 3 – Esquema do aparato experimental para o cultivo da cultura mista nativa.	30
Figura 4 – Representação esquemática da Etapa 1.....	31
Figura 5 – Representação esquemática da Etapa 2.....	33
Figura 6 – Representação esquemática da Etapa 3.....	34
Figura 7 – Variação dos valores de pH em função do tempo para os experimentos da Etapa 1.	41
Figura 8 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm em função do tempo para Etapa 1.	43
Figura 9 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final de cada experimento para Etapa 1.....	44
Figura 10 – Valores médios de densidade celular e clorofila <i>a</i> em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO ₂ ; B) com 5% de CO ₂ e C) com 10% de CO ₂	47
Figura 11 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO ₂ ; B) com 5% de CO ₂ e C) com 10% de CO ₂	52
Figura 12 – Valores de remoção de fósforo total em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO ₂ ; B) com 5% de CO ₂ e C) com 10% de CO ₂	55
Figura 13 – Perfil de remoção de nutrientes em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO ₂ ; B) com 5% de CO ₂ e C) com 10% de CO ₂	58
Figura 14 – Valores de porcentagem de remoção de Al, Cu e Fe para os experimentos da Etapa 1.	63
Figura 15 – Variação dos valores de pH em função do tempo para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.....	68
Figura 16 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530, 680 e 750nm em função do tempo para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.....	70
Figura 17 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final de cada experimento para Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.....	71
Figura 18 – Densidade celular e clorofila <i>a</i> em função do tempo para a melhor situação da Etapa 1 A) 5% CO ₂ ; e experimentos da Etapa 2 B) LED-média e C) LED-alta.....	74

Figura 19 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para A) com 5% de CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média e C) LED-alta –Etapa 2.....	79
Figura 20 – Remoção do fósforo total em função do tempo para a melhor situação da Etapa 1 A) com 5% de CO ₂ ; e experimentos da Etapa 2 B) LED-média e C) LED-alta.	82
Figura 21 – Perfil de remoção de nutrientes em função do tempo para A) com 5% de CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média e C) LED-alta –Etapa 2.	84
Figura 22 – Valores de remoção de Al, Cu e Fe para Etapa 2.....	88
Figura 23 – Variação dos valores de pH em função do tempo para a Etapa 3 em relação às melhores condições das Etapas 1 e 2.....	92
Figura 24 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm em função do tempo para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	94
Figura 25 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	95
Figura 26 – Densidade celular e clorofila <i>a</i> em função do tempo para A) 5% CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP – Etapa 3.....	97
Figura 27 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para A) com 5% de CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP –Etapa 3.....	101
Figura 28 – Valores de remoção do fósforo total em função do tempo para A) com 5% de CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP –Etapa 3.....	104
Figura 29 – Perfil de remoção de nutrientes para A) com 5% de CO ₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP –Etapa 3.....	107
Figura 30 – Perfil de pH, fósforo total e clorofila <i>a</i> para os experimentos A) LED-média – Etapa 2 a 25 °C e B) TEMP –Etapa 3 a 38 °C.	110
Figura 31 – Valores de porcentagem de remoção de Al, Cu e Fe para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	112
Figura 32 – Ilustração esquemática do balanço de massa para o fósforo total em solução.	115
Figura 33 – Balanços de massa dos experimentos da Etapa 1.....	116
Figura 34 – Balanços de massa dos experimentos da Etapa 2.....	117
Figura 35 – Balanço de massa do experimento da Etapa 3.	118

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Aplicação de consórcios microalgal-bacterianos em diferentes efluentes e suas eficiências de remoção.....	13
Tabela 2 – Comparativo entre as principais características dos consórcios de microalgas e microalgas-bactérias.	16
Tabela 3 – Principais mecanismos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo por microalgas.....	21
Tabela 4 – Aplicação de microalgas para a remediação de efluentes industriais.....	24
Tabela 5 – Caracterização do efluente secundário da ETE Tibiriçá.....	27
Tabela 6 - Parâmetros analisados para monitorar o tratamento utilizando microalgas.	35
Tabela 7 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 1.	39
Tabela 8: Valores de alcalinidade inicial e final para os experimentos da Etapa 1.....	42
Tabela 9 – Comparação entre os valores de produção de biomassa para cada experimento para Etapa 1.	45
Tabela 10 – Comparação entre os valores de clorofila <i>a</i> para cada experimento para Etapa 1.	48
Tabela 11 – Taxas de crescimento diária μ (d^{-1}) para os experimentos da Etapa 1.....	49
Tabela 12 – Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total ($mg.L^{-1}$) em solução para os experimentos da Etapa 1.	51
Tabela 13 – Taxas de remoção de N_{total} , NTK e NO_3 para os experimentos da Etapa 1.....	54
Tabela 14 – Relação N:P inicial e final para os experimentos da Etapa 1.	57
Tabela 15 – Valores iniciais e finais de DQO e a taxa de remoção diária para os experimentos da Etapa 1.....	59
Tabela 16 – Valores iniciais e porcentagens de remoção de nitrogênio, fósforo e carbono para os experimentos da Etapa 1 e referências da literatura.	60
Tabela 17 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 1.	62
Tabela 18 – Principais parâmetros obtidos para os três experimentos da Etapa 1.	65
Tabela 19 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 2.	66
Tabela 20 – Valores de alcalinidade inicial e final para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.....	69

Tabela 21 – Valores de eficiência de conversão de intensidade luminosa em biomassa para os experimentos da Etapa 2 e a melhor situação da Etapa 1.	72
Tabela 22 – Taxas de crescimento μ (d^{-1}) por dia para os experimentos da Etapa 2 e para melhor condição da Etapa 1.....	76
Tabela 23 – Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total ($mg.L^{-1}$) em solução dos experimentos da Etapa 2 e da melhor situação da Etapa 1.	77
Tabela 24 – Relação N:P inicial e final para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.....	85
Tabela 25 – Valores iniciais e finais de DQO para a Etapa 2 e melhor situação da Etapa 1.	85
Tabela 26 – Taxas de crescimento e porcentagens de remoção de nitrogênio e fósforo para os experimentos da Etapa 2 e melhor condição da Etapa 1.....	86
Tabela 27 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 2 e melhor condição da Etapa 1.....	87
Tabela 28 – Principais parâmetros obtidos para os experimentos da Etapa 2 e para melhor condição da Etapa 1.....	90
Tabela 29 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 3.	91
Tabela 30 – Valores de alcalinidade iniciais e finais para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	93
Tabela 31 – Taxas de crescimento μ (d^{-1}) por dia para o experimento da Etapa 3 e para as melhores situações das Etapas 1 e 2.	98
Tabela 32 – Taxas de crescimento globais calculadas para as melhores situações das Etapas 1 e 3 e para o experimento da Etapa 3.....	99
Tabela 33 — Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total ($mg.L^{-1}$) em solução do experimento da Etapa 3 e das melhores situações das Etapas 1 e 2.	100
Tabela 34 – Comparação entre as taxas de remoção de nitrogênio para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	102
Tabela 35 – Taxas de remoção de fósforo para as melhores situações das Etapas 1 e 2 e para o experimento da Etapa 3.	105
Tabela 36 – Relação N:P inicial e final para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.	108
Tabela 37 – Valores iniciais e finais de DQO para a Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.....	109

Tabela 38 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 1.	111
Tabela 39 – Principais parâmetros obtidos para os experimentos da Etapa 3 e melhores condições das Etapas 1 e 2.	114
Tabela 40 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.....	117
Tabela 41 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.....	118
Tabela 42 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.....	119

Lista de Abreviaturas e Siglas

% - Porcentagem

°C – Graus Celsius

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ADP – Adenosina difosfato

ANA – Agência Nacional das Águas

AT – Alcalinidade Total

ATP – Adenosina trifosfato

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior

Cel.ml⁻¹ – Células por mililitro

CO₂ – Dióxido de carbono

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DAE – Departamento de Água e Esgoto de Bauru

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DO – Densidade óptica

DO540 – Densidade óptica em 540 nm

DO680 – Densidade óptica em 680 nm

DO750 – Densidade óptica em 750 nm

DQO – Demanda Química de Oxigênio

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

FBRs – Fotobiorreatores

FEB – Faculdade de Engenharia de Bauru

LED – Diodo emissor de luz

mg.L⁻¹ – Miligrama por litro

NBR – Norma Brasileira Regulamentadora

NTK - Nitrogênio Total Kjeldahl

Ntotal – Nitrogênio Total

OD – Oxigênio dissolvido

ODS – Objetivos de Desenvolvimento Sustentável

OMS – Organização Mundial de Saúde

pH – Potencial Hidrogeniônico

P_{total} – Fósforo Total

SNIS – Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento

SST – Sólido em Suspensão Total

UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UNESP – Universidade Estadual “Júlio Mesquita Filho”

Sumário

RESUMO.....	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABELAS.....	V
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	VIII
SUMÁRIO.....	X
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GERAL	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1 SANEAMENTO	6
3.1.1 Tratamento de esgoto sanitário.....	6
3.1.2 Tratamento de esgoto sanitário usando microalgas.....	8
3.2 MICROALGAS.....	10
3.2.1 Consórcio de microalgas.....	10
3.2.2 Cultivo de microalgas.....	16
3.3 REMOÇÃO DE NUTRIENTES E METAIS UTILIZANDO MICROALGAS	19
3.3.1 Remoção de nutrientes.....	19
3.3.2 Remoção de metais pesados	23
4 MATERIAIS E MÉTODO.....	26
4.1 CULTIVO DA COMUNIDADE MISTA	26
4.2 CONFIGURAÇÃO EXPERIMENTAL	27
4.2.1 Etapa 1 - Influência da inserção de CO ₂	31
4.2.2 Etapa 2 - Intensidade luminosa	32
4.2.3 Etapa 3 - Temperatura	33
4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS	34
4.4 ANÁLISE DOS RESULTADOS	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 ETAPA 1: AVALIAÇÃO DA INSERÇÃO DE AR COM ENRIQUECIMENTO DE CO ₂	38
5.1.1 pH e Alcalinidade	40

5.1.2	<i>Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)</i>	42
5.1.3	<i>Densidade celular, clorofila a e cálculo da taxa de crescimento</i>	46
5.1.4	<i>Remoção de Nutrientes e DQO</i>	50
5.1.5	<i>Remoção de Metais Pesados</i>	61
5.1.6	<i>Considerações Etapa 1</i>	64
5.2	ETAPA 2: AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DA INTENSIDADE LUMINOSA	66
5.2.1	<i>pH e Alcalinidade</i>	67
5.2.2	<i>Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)</i>	69
5.2.3	<i>Densidade celular, clorofila a e cálculo da taxa de crescimento</i>	73
5.2.4	<i>Remoção de Nutrientes e DQO</i>	77
5.2.5	<i>Remoção de Metais Pesados</i>	87
5.2.6	<i>Considerações Etapa 2</i>	89
5.3	ETAPA 3: AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DE TEMPERATURA	90
5.3.1	<i>pH e Alcalinidade</i>	92
5.3.2	<i>Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)</i>	94
5.3.3	<i>Densidade celular, clorofila a e cálculo da taxa de crescimento</i>	96
5.3.4	<i>Remoção de Nutriente e DQO</i>	99
5.3.5	<i>Remoção de Metais Pesados</i>	111
5.3.6	<i>Considerações Etapa 3</i>	112
5.4	BALANÇO DE MASSA.....	114
5.4.1	<i>Balanço de massa Etapa 1</i>	115
5.4.2	<i>Balanço de massa Etapa 2</i>	117
5.4.3	<i>Balanço de massa Etapa 3</i>	118
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	120
6.1	PRINCIPAL.....	120
6.2	ESPECÍFICAS	120
6.3	RECOMENDAÇÕES.....	121
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122

1 INTRODUÇÃO

Apesar de ter sua importância estratégica reconhecida universalmente, os recursos hídricos enfrentam severas ameaças quantitativas e qualitativas, como o aumento de demanda de consumo e as diversas formas de contaminação, o que aumenta a necessidade de desenvolvimento de tecnologias para sua recuperação e preservação (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIKAN; IBRAHEEM, 2012; LI *et al.*, 2019).

As práticas agrícolas com uso generalizado de pesticidas, os processos desordenados de urbanização e industrialização, entre outras atividades humanas, têm influência no ciclo bioquímico global, contaminando as águas superficiais e subterrâneas (PAL *et al.*, 2014; SUTHERLAND; RALPH, 2019).

A industrialização em países em desenvolvimento está associada ao aumento da concentração de metais pesados em corpos hídricos. Em especial indústrias, como as de fertilizantes e pesticidas, de baterias, curtumes, entre outras, que lançam direta ou indiretamente seus efluentes no meio ambiente são responsáveis por este problema (FU; WANG, 2011).

O monitoramento da qualidade da água evidencia a presença de centenas de poluentes com efeitos negativos sobre a saúde e o ecossistema (PAL *et al.*, 2014). Algumas das consequências da presença desses contaminantes nos ecossistemas aquáticos são as perdas de espécies e da função do ecossistema, bem como o aumento dessas substâncias ao longo da cadeia alimentar (ASLAN; KAPDAN, 2006; FERNANDES *et al.*, 2017; MUSTAFA *et al.*, 2021).

Os esgotos sanitários são resultado de várias atividades humanas (ZEEMAN *et al.*, 2008) e têm como principais poluentes os sólidos em suspensão, matéria orgânica biodegradável, nutrientes e organismos patogênicos (VON SPERLING, 2007). O acesso ao saneamento é considerado um direito básico para garantir a segurança e o bem-estar da comunidade, pois a coleta, o tratamento e o descarte adequado das águas residuais reduzem

a transmissão de doenças de veiculação hídrica e previnem a degradação dos corpos receptores (WHO, 2018).

Segundo Lettinga, G. (1995) o uso de sistemas integrados que conciliem o tratamento de esgotos anaeróbios com recuperação e reutilização de seus subprodutos são especialmente interessantes para países em desenvolvimento como forma de enfrentamento aos problemas ambientais, à falta de recursos e às questões que envolvem a produção de energia e alimentos.

O tratamento de esgoto usualmente é dividido em quatro etapas, sendo elas: 1) preliminar, para remoção de sólidos grosseiros; 2) primária, para remoção de sólidos sedimentáveis e parte da carga orgânica; 3) secundária, cujo objetivo principal é a remoção de carga orgânica com predominância de processos biológicos, que são pouco eficientes na remoção de nutrientes e metais; 4) terciária, para remoção de poluentes específicos, sendo esta última ainda pouco implementada no Brasil (VON SPERLING, 2007; METCALF; EDDY, 2003).

O tratamento convencional do esgoto, cuja abordagem é linear, parte da premissa de que este é um resíduo e, embora as tecnologias utilizadas sejam relativamente simples e consolidadas, esses processos geram grandes quantidades de lodo e o tratamento terciário para a remoção de nutrientes é bastante custoso, com potencial de gerar poluição adicional (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012; BUX; CHISTI, 2016). Considerando a crescente tendência da economia circular, o saneamento ecológico surge como uma alternativa de recuperação e reciclagem de recursos e de água, tratando-os como produtos comercializáveis, ao invés de resíduos (ESREY *et al.*, 2001; PANTANO *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2019).

Em alinhamento com essa nova perspectiva de valorização dos produtos oriundos do tratamento de esgoto, diferentes tecnologias vêm sendo estudadas. Neste cenário, os diversos sistemas de tratamento utilizando microalgas, tanto em esgotos sanitários como em agroindustriais, podem ser utilizados como tratamento ou como polimento das águas residuais e apresentam aspectos vantajosos, como baixo consumo de energia, menores custos em relação aos processos tradicionais, possibilidade de remoção de metais e de reciclagem e recuperação de nutrientes, pois as microalgas têm potencial metabólico para reduzir as concentração desses compostos, além da produção de biomassa para várias aplicações (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012; FU; WANG, 2011; GULDHE *et al.*, 2017; KOMOLAFE *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2021; SUBASHCHANDRABOSE *et al.*, 2011).

Outra vantagem do uso de microalgas para o tratamento de águas residuais é a relação simbiótica com as bactérias, fornecendo oxigênio e aumentando a eficiência de remoção de DBO (demanda bioquímica de oxigênio), o que diminui os custos com aeração (MUSTAFA *et al.*, 2021; SUTHERLAND; RALPH, 2019). Através da fotossíntese, as algas produzem oxigênio, que pode ser utilizado pelas bactérias aeróbias no processo de biodegradação da matéria orgânica, e estas, por sua vez, fornecem gás carbônico para o processo de fotossíntese (CHIA *et al.*, 2021). Portanto, há ainda mais uma vantagem: o consumo do CO₂ no processo que contribui para a mitigação dos efeitos adversos causados pelo seu excesso na atmosfera (MOHSENPOUR *et al.*, 2021; SU; MENNERICH; URBAN, 2011).

Alguns aspectos podem afetar a eficiência do consórcio algas-bactérias no tratamento do esgoto, como a disponibilidade de nutrientes, o valor do pH, a intensidade luminosa, a temperatura e fatores biológicos, como predação por vírus ou protozoários e competição com outras bactérias por nutrientes (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016).

Os compostos gerados pelas microalgas podem ter alto valor para indústrias farmacêuticas e de alimentos. Ademais, utilizando águas residuais como meio de cultura, compostos com possíveis usos agrícolas e também biocombustíveis são de grande interesse de pesquisa, porém a produção desses compostos requer o cultivo de microalgas em larga escala (BARBOSA; ALBRECHT; WIJFFELS, 2003; KLIPHUIS *et al.*, 2010). Um aspecto favorável da biomassa algal é o acúmulo de nitrogênio e fósforo durante o processo de remoção (SU; MENNERICH; URBAN, 2011). Embora a biomassa microalgal venha sendo estudada para diversas aplicações, o seu cultivo utilizando águas residuais gera preocupações para aplicações na área alimentícia devido ao potencial de toxicidade, a possíveis contaminações de metais pesados e a níveis perigosos de patógenos (BUX; CHISTI, 2016; GULDHE *et al.*, 2017).

O tratamento de águas residuais usando microalgas pode contribuir significativamente no enfrentamento de outros desafios sociais crescentes, a saber: a escassez hídrica, que afeta até 40% da população global; e o risco de insegurança alimentar, que cresce com o aumento da população mundial, de modo que algumas regiões já sofrem com falta de reservas de fósforo (EL WALI; GOLROUDBARY; KRASLAWSKI, 2021).

Em alinhamento com a visão circular de produção, o uso de microalgas para o tratamento de efluentes colabora para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), impactando diretamente o Objetivo 6 – Água potável e saneamento e o

Objetivo 11 – Cidades e comunidades sustentáveis. Além disso, de forma indireta, são impactados os outros ODS, como o Objetivo 2 – Fome zero e agricultura sustentável, o Objetivo 8 – Trabalho decente e crescimento econômico e o Objetivo 12 – Consumo e produção responsáveis (EL WALI; GOLROUDBARY; KRASLAWSKI, 2021).

Sendo assim, frente aos cenários, já identificados, de necessidade de preservação da qualidade dos corpos hídricos, diminuição de riscos ambientais, como eutrofização e escassez hídrica, além da crescente demanda de macro e micronutrientes por parte da produção agrícola, é imprescindível a pesquisa e o desenvolvimento de tecnologias que busquem remoção de nutrientes e metais pesados, recuperação e reutilização de nutrientes de substratos existentes, como o esgoto sanitário, com foco na valorização dos produtos gerados e diminuição do impacto no meio ambiente. Neste contexto, o presente estudo avalia os impactos da variação dos parâmetros de inserção de gás carbônico, intensidade luminosa e temperatura na capacidade de remoção de nutrientes e biorremediação de metais, além da geração de biomassa com potencial biotecnológico da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias do efluente tratado anaerobiamente em filtro biológico de fluxo ascendente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Compreender os impactos das variações de inserção de gás carbônico, de intensidade luminosa e de temperatura, em escala laboratorial, para crescimento e atividade da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias no efluente tratado anaerobiamente em filtro biológico de fluxo ascendente, com vistas à remoção de nutrientes e biorremediação de metais pesados dissolvidos no efluente.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a influência, no perfil de crescimento da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias, da variação dos seguintes parâmetros: inserção de ar com e sem enriquecimento de gás carbônico, intensidade luminosa e temperatura;
- Determinar a capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo para cada etapa do experimento;
- Avaliar o potencial da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias para a remoção de metais pesados em solução.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Saneamento

3.1.1 *Tratamento de esgoto sanitário*

Segundo a Norma Brasileira NBR 9648 (ABNT, 1986), o esgoto sanitário é definido como “despejo líquido constituído de esgotos doméstico e industrial, água de infiltração e a contribuição pluvial parasitária”. É usualmente composto por 99,9% de água 0,1% de sólidos, sendo esses sólidos majoritariamente matéria orgânica, porém suas características podem variar bastante, dependendo dos principais usos, do clima, da situação social, econômica e dos hábitos da população (BRAGA, 2005; JORDÃO, 1995; VON SPERLING, 1996).

Além da matéria orgânica, são constituintes típicos do esgoto sanitário nutrientes, como nitrogênio e fósforo, metais, materiais inorgânicos variados de fontes domésticas e industriais, além de microrganismos patogênicos (GULDHE *et al.*, 2017). Nesse sentido, o principal objetivo do tratamento de águas residuais é reduzir a carga orgânica, minimizando o impacto nos corpos hídricos (MOHSENPOUR *et al.*, 2021; VON SPERLING, 2007).

O referido impacto nos corpos hídricos tem consequências ambientais e sociais, algumas delas são: falta de saneamento associada às doenças diarreicas, várias infecções – como as respiratórias e aquelas provocadas por helmintos –, desnutrição e esquistossomose, tendo as crianças como maiores afetadas, principalmente as menores de cinco anos, que vivem em países em desenvolvimento (VAN MINH; HUNG, 2011).

No Brasil, apenas 61,4% da população urbana é atendida por redes coletoras de esgoto, mas nem todo esgoto coletado é destinado para tratamento, portanto, apenas 42,6% da população urbana tem acesso à coleta e tratamento de esgoto, ou seja, 96,7 milhões de pessoas não dispõem de tratamento coletivo de esgotos (ANA, 2020). Outro dado importante é que foram identificadas 3419 estações de tratamento de esgoto (ETE) em operação, atendendo 1893 cidades, porém apenas 970 ETEs alcançam remoção de DBO superior a 80% e, destas, somente 131 unidades foram projetadas para remoção de nutrientes (ANA, 2020).

O lançamento de esgoto sem tratamento adequado acarreta sérios problemas de poluição, como a eutrofização, cuja principal causa é o aumento das concentrações de nutrientes nos corpos hídricos, com consequências preocupantes, entre elas, o crescimento excessivo de algas e plantas aquáticas, o declínio da concentração de oxigênio dissolvido, a perda de espécies, além do risco à saúde pública e do aumento dos custos de tratamento associados à remoção das algas e alterações das características organolépticas da água (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; VON SPERLING, 1996).

Para minimizar os problemas com eutrofização e garantir a preservação do meio ambiente, em especial das fontes de água, é evidente a necessidade de desenvolvimento de métodos biológicos físicos e/ou químicos de tratamento que sejam eficazes na remoção das concentrações de nitrogênio e fósforo em águas residuárias, antes do lançamento em corpos naturais (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; GULDHE *et al.*, 2017; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Diferentes abordagens físicas e/ou químicas foram desenvolvidas para remoção de nutrientes e outros contaminantes dos efluentes, como precipitação usando sais de ferro e alumínio, troca de íons, processos de oxidação, coagulação, filtração de membrana, extração em fase sólida, nanofiltração, degradação fotocatalítica e eletroquímica entre outros. Entretanto esses métodos têm algumas desvantagens, como a geração de lodo tóxico ou outros resíduos, remoção incompleta dos poluentes, além de alto custo com reagentes e requisitos energéticos (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MUSTAFA *et al.*, 2021).

Os processos de remoção biológica de nutrientes incluem digestão anaeróbia seguida de nitrificação e desnitrificação, realizadas através de combinações de zonas aeróbias, anaeróbias e anóxicas, que apresentam limitações, como a necessidade de vários ciclos, grandes tanques e recirculação de lodo no processo, impactando nos custos e na complexidade da operação.

A economia circular busca encontrar alternativas para desafios sociais e ambientais, visando ao desenvolvimento sustentável (EL WALI; GOLROUDBARY; KRASLAWSKI, 2021). Com a premissa de desenvolver um tratamento circular sustentável, o saneamento ecológico aborda o esgoto como fonte de recurso através da recuperação e reciclagem de nutrientes e água para reutilização (ESREY *et al.*, 2001; FERNANDES *et al.*, 2017).

Considerando essa abordagem circular, o uso de microalgas para remoção de nutrientes de águas residuais apresenta bons resultados como tratamento terciário, além da valiosa produção de biomassa e menores custos globais de tratamento (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; GULDHE *et al.*, 2017).

Alguns dos desafios e desvantagens do uso de sistemas de tratamento baseados em microalgas são: a imensa variedade de combinações de microrganismos, tornando o desenho do consórcio (seleção e razão entre microrganismos, etc.) bastante complexo, além das dificuldades na sua manutenção em processos longos e em sistemas abertos (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

3.1.2 Tratamento de esgoto sanitário usando microalgas

Os estudos utilizando microalgas para tratamento de águas residuais datam do início da década de 1950 e se intensificam cada vez mais devido às suas vantagens ambientais e econômicas (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018). Com o agravamento de questões como o aquecimento global e o consumo energético no setor hídrico, além dos custos de descarte de lodo, as ETEs convencionais passam por uma mudança de paradigma em busca da sustentabilidade na recuperação de energia e também da geração de produtos de valor agregado. Assim, as organizações internacionais adotam novos termos como *Water Resource Recovery Facility* para estas estações de tratamento (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018; LIU *et al.*, 2018).

Os projetos das ETEs são comumente desenvolvidos com base no nível de tratamento exigido para o efluente final (VON SPERLING, 2007). No entanto, com a atual percepção do potencial valor dos compostos orgânicos e inorgânicos que podem ser recuperados e reciclados do efluente, voltando na forma de recursos (VASCONCELOS FERNANDES *et al.*, 2015), o uso de culturas mistas, em que as relações simbióticas entre

microalgas e bactérias podem ser exploradas vantajosamente para o tratamento de águas residuais vem ganhando espaço (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018).

As águas residuais de diferentes origens são fontes de carbono, nitrogênio e fósforo, principais nutrientes necessários para o crescimento das microalgas (GULDHE *et al.*, 2017). Com isso, vários estudos analisam o potencial de crescimento microalgal em diversos meios de cultivo – como esgotos domésticos, agrícolas, industriais, entre outros –, avaliando a remoção de nutrientes desses efluentes, a produção de biomassa e a redução de impactos ambientais, além de futuros usos como fertilizantes – dado o cenário de insustentabilidade de produção em longo prazo dos fertilizantes químicos – e produção de biocombustíveis (BUX; CHISTI, 2016; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MANZOOR *et al.*, 2016).

Durante as etapas de tratamento nas ETEs, são gerados efluentes com diferentes características os quais são usualmente divididos em quatro tipos: os efluentes primários, gerados após o tratamento preliminar e antes do processo biológico; os efluentes secundários, gerados após o tratamento biológico; os efluentes terciários, gerados após a desinfecção; e o efluente gerado no processo de desaguamento do lodo (OLGUÍN, 2012; VON SPERLING, 2007; ZHOU *et al.*, 2014).

O uso de microalgas para tratamento de efluentes primários enfrenta desafios semelhantes ao seu uso em efluentes brutos, dentre os quais podem-se destacar: menor disponibilidade de luz, maior competição com bactérias e presença de substâncias inibidoras. Por outro lado, esse tipo de efluente apresenta vantagens como maior concentração de nutrientes e de carbono orgânico, por exemplo (GULDHE *et al.*, 2017; MUSTAFA *et al.*, 2021).

O cultivo de microalgas em efluentes secundários ou terciários atualmente é considerado como o meio mais adequado, pois, após o tratamento em estações convencionais, há uma redução da DQO, ou seja, tanto o carbono orgânico quanto outros compostos tóxicos estão em concentrações menores; todavia, em alguns casos, pode ser necessária a suplementação de nutrientes para aumentar a produtividade de biomassa (GULDHE *et al.*, 2017; KOMOLAFE *et al.*, 2014).

Usualmente, as microalgas são utilizadas como tratamento terciário de efluentes, reduzindo ainda mais as concentrações de nitrogênio e fósforo, o que é vantajoso do ponto de vista do reuso de água (MOHSENPOUR *et al.*, 2021), cujos potenciais usos estão vinculados à sua qualidade e incluem uso agrícola para irrigação restrita e irrestrita ou descarregamento em um corpo receptor (KOMOLAFE *et al.*, 2014).

Não obstante, do ponto de vista energético, o uso de microalgas para tratamento de efluentes secundários e/ou terciários não reduz o consumo energético global do tratamento, ou seja, energeticamente o local mais vantajoso para o uso das microalgas seria o efluente primário, no qual elas atuariam como tratamento secundário (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Com a crescente preocupação com a sustentabilidade dos sistemas convencionais de tratamento de efluentes em termos de viabilidade econômica e ambiental – principalmente nos termos de consumo de energia e as emissões de gases de efeito estufa –, o uso de microalgas apresenta-se como um método eficiente de biorremediação, devido à capacidade de captura de gás carbônico e geração de oxigênio através da fotossíntese, formando subprodutos importantes, como lipídios e carboidratos, além da capacidade de absorção e degradação de poluentes persistentes, como metais pesados (MOHSENPOUR *et al.*, 2021; MUSTAFA *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2016).

A biorremediação usando microalgas acontece principalmente via dois processos: a bioacumulação e a biodegradação. A bioacumulação é um processo ativo no qual a biomassa algal adsorve poluentes orgânicos e inorgânicos como metais pesados e pesticidas, nitratos, sulfatos e fosfatos, transferindo-os para dentro das células (MUSTAFA *et al.*, 2021). Já o processo de biodegradação consiste na capacidade de as microalgas degradarem poluentes, transformando-os em intermediários que podem, então, ser degradados por outros microrganismos (MUSTAFA *et al.*, 2021).

A maior limitação do uso de microalgas é justamente o processo de separação da biomassa do efluente tratado, cujas principais soluções estudadas são filtração, centrifugação, adição de coagulantes e sistemas de imobilização, porém ainda pouco eficazes e/ou muito caros (LIU; SONG; QIU, 2017; PAHL *et al.*, 2013; SU; MENNERICH; URBAN, 2011).

3.2 Microalgas

3.2.1 Consórcio de microalgas

A literatura dispõe de diversos estudos bem sucedidos usando culturas puras de microalgas para remoção de poluentes em diferentes águas residuais, porém sua

reprodutibilidade em condições operacionais de uma estação de tratamento de efluentes é limitada, dada a presença natural de diversos microrganismos em águas residuais reais, além da dificuldade em manter a monocultura nestas condições operacionais (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MOHSENPOUR *et al.*, 2021; MUSTAFA *et al.*, 2021).

Para mitigar estes riscos de contaminação e de outras perdas, o uso de culturas mistas tem se mostrado vantajoso, além de promover ganhos em biossegurança, acumulação de lipídios e produtos de alto valor (PADMAPERUMA *et al.*, 2018), embora ainda haja um vasto campo de pesquisas a realizar sobre o desempenho das culturas mistas (FALLAHI *et al.*, 2020).

As culturas mistas – ou consórcios – são compostos por diferentes microrganismos, que desenvolvem uma relação de sinergia em que processos complexos são favorecidos, resultando em um sistema mais robusto, capaz de resistir melhor às variações ambientais e à competição com outras espécies (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; RAMANAN *et al.*, 2016; RASHID; PARK; SELVARATNAM, 2018).

Outra vantagem do uso de culturas mistas é a tendência à formação de agregados mais densos, o que favorece a separação por sedimentação, uma vez que a separação está frequentemente associada ao alto custo e a limitações técnicas (ALCÁNTARA *et al.*, 2015; FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018).

As culturas mistas podem ocorrer naturalmente ou ser artificialmente produzidas por combinação de microrganismos, sendo mais utilizadas para tratamento de águas residuais aquelas que incluem consórcios de microalgas constituídos exclusivamente por microrganismos fotossintetizantes (eucarióticos e/ou procarióticos) e consórcios microalgas-bactérias, que são constituídos por microrganismos fotossintéticos e bactérias heterotróficas (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; YOU *et al.*, 2021).

Os sistemas compostos por culturas mistas são mais resistentes em relação às flutuações ambientais e de composição do efluente, através do compartilhamento de metabólitos das diferentes espécies, superando limitações de nutrientes, estresse e competições com outras espécies (GULDHE *et al.*, 2017), além das vantagens operacionais já discutidas no item 3.1.2.

A simbiose entre as espécies é crucial para o sucesso do cultivo, e as culturas nativas tendem a ser mais adaptadas às águas residuais (GULDHE *et al.*, 2017). Após desenvolver um estudo com 27 cepas, Zhou *et al.* (2011) concluíram que espécies

desenvolvidas naturalmente em águas residuais tendem a apresentar um desempenho melhor do que a maioria das outras em escala comercial.

No entanto alguns aspectos são limitantes, como a menor taxa de crescimento das microalgas em relação à das bactérias, que pode resultar em um aumento no tempo de retenção hidráulica do processo; e também a possibilidade de um aumento do carbono orgânico, influenciando negativamente na qualidade do efluente final (LEE *et al.*, 2015).

Na Tabela 1, estão apresentados os valores de remoção de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica por diferentes culturas mistas de microalgas e bactérias aplicadas em diferentes águas residuais (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

Tabela 1 – Aplicação de consórcios microalgal-bacterianos em diferentes efluentes e suas eficiências de remoção.

Microrganismos	Efluente	Modo de operação	Nitrogênio		Fósforo		Carbono		Referência
			Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	
Consórcio de algas e bactérias nativas	Concentrado do desaguamento de lodo	Sistema imobilizado (biofilme)	666 NT	60	101 PO ₄ -P	54	76 COT	≈0	(POSADAS et al., 2013)
Consórcio de algas e bactérias nativas	Efluente doméstico primário	Sistema imobilizado (biofilme)	91 NT	70	7 PO ₄ -P	85	181 COT	90	(POSADAS et al., 2013)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Efluente digerido anaerobiamente	Fotobioreator tubular	1290	78,4	68	68,7	NA	NA	(SILVA et al., 2019)
<i>Chlorella sp.</i> , <i>Pediastrum sp.</i> , <i>Phormidium sp.</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> e bactérias de Lodos Ativados	Efluente sanitário primário	Sistema suspenso, fechado, semi-contínuo	44,3 NT	61,2	1,4 PO ₄ -P	30,2-56,8	NA	NA	(VAN DEN HENDE et al., 2011)
<i>Chlorella spp.</i> e <i>Azospirillum brasilense</i>	Efluente sanitário	Sistema imobilizado (em alginato)	4-5,2 NO ₃ -N 0,1-4,3 NH ₄ -N	15 100	4,1 PO ₄ -P	36	NA	NA	(DE-BASHAN et al., 2004)

continua

Microrganismos	Efluente	Modo de operação	Nitrogênio		Fósforo		Carbono		Referência
			Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	
<i>Chlorella vulgaris</i> e bactérias nativas de efluente doméstico primário	Efluente sanitário primário	Sistema suspenso, fechado, batelada	17-207 NH ₄ -N	30,9-100	1,4-19,6 PT	65-98	NA	NA	(HE et al., 2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Efluente doméstico	Reator de coluna aerado	104,51	94,18	23,65	97,69	NA	NA	(MAYHEAD et al., 2018)
Consórcio de microalgas de uma lagoa de alta taxa e bactérias de Lodos Ativados	Efluente doméstico	Sistema aberto, suspenso, contínuo	56 NH ₄ -N	91,8-96,9	7,0 PO ₄ -P	70,0-72,9	NA	NA	(PARK; CRAGGS, 2011)
Microalgas nativas (predominância de <i>Dictyosphaerium</i>)	Efluente farmacêutico	Fotobioreator	49,7	67,8	2,4	55,6	NA	NA	(GENTILI; FICK, 2017)
Microalgas nativas de efluente sanitário e bactérias nativas de Lodos Ativados	Efluente sanitário primário	Sistema aberto, suspenso, batelada	50,1 NT	93,7-95,8	8,8 PO ₄ -P	64,0-93,5	380 DQO	91,2-96,2	(SU; MENNERICH; URBAN, 2012)

continua

Microrganismos	Efluente	Modo de operação	Nitrogênio		Fósforo		Carbono		Referência
			Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	
Consórcio nativo de algas e bactérias de efluente primário	Efluente sanitário primário	Sistema suspenso, fechado, batelada	14,6-18,9 NH ₄ -N	100	3,8-4,9 PO ₄ -P	54,5- 72,6	36,9-63,6 DQO 103,0-190,9 COT	75,2 98	(SU; MENNERICH; URBAN, 2011)

Abreviaturas: Ci – concentração inicial (mg.L⁻¹); %R – eficiência de remoção; NO₃-N – nitrato-nitrogênio (mgN.L⁻¹); NH₄-N – amônio-nitrogênio (mgN.L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgN.L⁻¹); PO₄-P – fosfato-fósforo (mgP.L⁻¹); PT – fósforo total (mgP.L⁻¹); COT – carbono orgânico total (mgC.L⁻¹); DQO – demanda química de oxigênio (mgO₂.L⁻¹); NA. – não aplicável.

Fonte: Adaptado de (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MUSTAFA et al., 2021)

O uso de culturas mistas para tratamento de águas residuais vai além da remoção de nutrientes, sendo também usadas para remoção de contaminantes perigosos como pesticidas, metais pesados, produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, entre vários outros (LEONG; CHANG, 2020; RUGNINI *et al.*, 2018; YOU *et al.*, 2021).

Na Tabela 2, estão listadas algumas das principais características dos consórcios entre diferentes espécies de microalgas e entre espécies de microalgas e bactérias.

Tabela 2 – Comparativo entre as principais características dos consórcios de microalgas e microalgas-bactérias.

Consórcio entre microalgas	Consórcio entre microalgas e bactérias
Poucas informações entre as interações estabelecidas	Interações relativamente bem estudadas
Pode ocorrer tanto cooperação como competição entre as espécies	Pode ocorrer tanto cooperação como competição entre as espécies
-	Interações cooperativas baseadas na troca de nutrientes
Pode ser aplicado como tratamento terciário no tratamento de águas residuais	Pode ser aplicado tanto como tratamento secundário quanto como terciário no tratamento de águas residuais
Efetiva remoção de nitrogênio, fósforo e outros elementos, como metais pesados	Efetiva remoção de nitrogênio, fósforo e carbono orgânico, podendo reduzir custos associados ao tratamento secundário

Fonte: Adaptado de (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017)

O uso de culturas mistas nativas é, portanto, uma alternativa promissora de tratamento de águas residuais, pois não provoca preocupações quanto à contaminação da cultura nem há necessidade de tempo de adaptação ao meio, podendo levar à redução de custos operacionais (CHOUDHARY *et al.*, 2016; MORENO-GARCÍA *et al.*, 2021; WALLS *et al.*, 2019)

3.2.2 Cultivo de microalgas

A dinâmica das comunidades mistas de microalgas e bactérias é função tanto da interação entre os organismos quanto das condições operacionais e ambientais a que estão submetidos (MOHSENPOUR *et al.*, 2021). A interação entre microalgas e bactérias é

bastante complexa e pode ser positiva quando, por exemplo, se dá a excreção de compostos pelas bactérias que podem promover o crescimento de microalgas; ou negativa quando há aumento nos valores de pH e concentração de O₂, resultado da fotossíntese, o que pode ter um efeito prejudicial sobre a atividade bacteriana (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

No caso de interações positivas das culturas mistas, as bactérias fornecem CO₂ para o crescimento das microalgas através de seu metabolismo heterotrófico, mineralizando a matéria orgânica; e as microalgas fornecem O₂ via fotossíntese, com o potencial para atender às necessidades de O₂ de todo o sistema de tratamento sem o uso de aeração mecânica ou mistura, reduzindo, assim, as demandas energéticas de todo o processo de tratamento (BUX; CHISTI, 2016; GODOS *et al.*, 2010; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

As microalgas são capazes de gerar biomassa utilizando os nutrientes dissolvidos nos efluentes e energia luminosa com vantagens, como alta eficiência fotossintética, absorção de CO₂ sem concorrer com a produção de alimentos (CHONG *et al.*, 2022). Para isso, parâmetros – como luz, temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes – devem ser controlados durante o processo de cultivo (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

Para a manutenção das taxas de crescimento das microalgas, é importante controlar os fatores bióticos, que incluem presença de patógenos e competição com outras microalgas, e abióticos, como intensidade luminosa, concentrações de nutrientes, pH e temperatura (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

A temperatura tem influência significativa no crescimento microalgal e na eficiência do tratamento, sendo que a temperatura ideal varia com as espécies e muitos estudos utilizam a faixa de 18°C e 20°C (BARSANTI; GUALTIERI, 2014; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

O aumento da temperatura geralmente intensifica a atividade metabólica e, conseqüentemente, as taxas de remoção de nutrientes crescem. Entretanto aumentar a temperatura do efluente de forma artificial não é viável nas operações reais de tratamento, portanto as espécies usadas no tratamento devem estar aclimatadas às condições ambientais frequentes na estação de tratamento (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Em relação à intensidade luminosa, a taxa de atividade fotossintética será proporcional à irradiação em casos abaixo do ponto de saturação de luz, porém, acima desse ponto pode ocorrer inibição da fotossíntese, pois o excesso de luz, bem como a temperatura, podem danificar os receptores celulares (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MOHSENPOUR *et al.*, 2021). O valor ideal de intensidade luminosa varia com as

espécies e com a temperatura e manter a cultura no ponto de saturação evita desperdício de energia, pois o excesso de luz não é utilizado pelas algas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Segundo Lee *et al.* (2015), tanto o fotoperíodo quanto a intensidade luminosa influenciam a capacidade de remoção de nitrogênio e fósforo nos efluentes tratados por comunidades mistas, sendo que longos períodos em condições escuras reduzem a eficiência de remoção.

Outro fator que pode ter impacto negativo nas taxas de crescimento é o estresse hidrodinâmico, de modo que as altas taxas de cisalhamento e/ou turbulência podem ser associadas a baixas taxas de crescimento e produtividade em situações nas quais o crescimento diminui com o aumento da velocidade superficial do gás (BARBOSA; ALBRECHT; WIJFFELS, 2003).

As culturas de microalgas podem ser cultivadas em sistemas de células em suspensão ou imobilizadas, cada qual com vantagens e desvantagens (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; VAN DEN HENDE *et al.*, 2011). O cultivo em suspensão é a forma mais comum e inclui biorreatores abertos e fechados (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; SU; MENNERICH; URBAN, 2012).

Os fotobiorreatores (FBRs), conhecidos como “*PBRs-photobioreactors*”, são sistemas fechados de cultivo de microalgas e permitem um bom controle de parâmetros – como pH, temperatura, mistura, dióxido de carbono e oxigênio, evaporação – e minimizam o risco de contaminações com outros microrganismos. Todavia apresentam dificuldades operacionais em grande escala e altos custos de construção (DARVEHEI; BAHRI; MOHEIMANI, 2018; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; ZHANG *et al.*, 2020). Os sistemas abertos mais utilizados são as lagoas, que usualmente apresentam maior capacidade de produção, porém apresentam desafios quanto à mistura, oscilações de condições ambientais e contaminações, além de perdas por evaporação e dificuldade de difusão luminosa (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

A outra forma de cultivo é o imobilizado, que apresenta vantagens em relação aos sistemas suspensos, principalmente no quesito separação da biomassa, e pode ser feita de forma natural ou passiva, baseada na capacidade inata das microalgas de se aderirem a uma superfície, formando um biofilme; ou podem ser artificiais ou, ainda, ativas que incluem adsorção, confinamento em emulsões líquido-líquido, captura com membranas semipermeáveis, acoplamento covalente e armadilha dentro de polímeros, sendo esta última a forma mais comum. Contudo os altos custos acabam por limitar o uso em grande

escala (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; WHITTON et al., 2016; ZHANG et al., 2020).

3.3 Remoção de nutrientes e metais utilizando microalgas

3.3.1 Remoção de nutrientes

A resolução brasileira que define os valores máximos permitidos para nitrogênio amoniacal, nitrato, nitrito e fósforo para enquadramento dos corpos hídricos é a CONAMA 357, de 17 de março de 2005, com variação dos valores, a depender da classe do corpo d'água. No entanto, não há padrões de lançamento para as formas de nitrogênio e fósforo, mesmo na resolução CONAMA 430, de 13 de maio de 2011, que dispõe sobre condições e parâmetros para o lançamento de efluentes em corpos receptores (PROSAB, 2009).

A previsão de escassez de recursos e os impactos – no meio ambiente e na saúde – do excesso de nutrientes nos corpos hídricos motiva o desenvolvimento de pesquisas cujo foco é a circularidade dos nutrientes presentes em efluentes (VAN DER WIEL *et al.*, 2019).

O uso de microalgas no tratamento de águas residuais oferece inúmeras vantagens econômicas e ambientais, como possibilidade de mitigação das emissões de gases de efeito estufa e geração de energia renovável (GULDHE *et al.*, 2017). O carbono inorgânico é o principal nutriente para o crescimento das microalgas, dada a sua relação com a fotossíntese. Todavia outros nutrientes, como nitrogênio e fósforo, são necessários e baixas concentrações podem resultar em taxas de crescimento reduzidas, com pouca produção de biomassa (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

Diferentes estudos demonstraram a eficiência das microalgas consideravelmente superior à maioria das plantas terrestres na fixação de CO₂ (GULDHE *et al.*, 2017; MUSTAFA *et al.*, 2021). Em condições adequadas de cultivo, as microalgas representam uma alternativa bastante interessante para captura de CO₂ (GULDHE *et al.*, 2017).

A relação das microalgas com o gás carbônico se dá em função da fotossíntese, de modo que baixos níveis de CO₂ podem limitar as taxas de crescimento e, consequentemente, de remoção de nutrientes; ademais, o aumento da concentração pode potencializar o crescimento microalgal (KAYA *et al.*, 1996; MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

A maximização da taxa de crescimento tem o potencial de maximizar também a produção de biomassa, a remoção de nutrientes do efluente e a fixação de carbono (LIU *et al.*, 2017c).

Segundo Mustafa *et al.* (2021), a suplementação de CO₂ pode levar a melhores resultados de produção de biomassa, ou seja, a eficiência de fixação de CO₂ pelas microalgas está associada à sua concentração, que pode chegar a até 15%. Contudo é necessário controlar o valor de pH, que diminui com o acréscimo de CO₂, e pode reduzir o crescimento microalgal caso atinja valores inferiores a 5,5.

Vários estudos buscam determinar as concentrações de CO₂ adequadas, e os resultados variam com a espécie de microalgas e com o efluente utilizado (LIU *et al.*, 2017c) estudou o crescimento de *Chlorella vulgaris* cultivada com aeração enriquecida com CO₂ de 1 a 20% v/v em esgoto doméstico e obteve os melhores resultados entre 5 e 10%. Já Nayak; Karemore; Sen (2016) estudaram o crescimento de *Scenedesmus sp.* em esgoto doméstico com aeração enriquecida com CO₂ de 0,03 a 10% e obtiveram o melhor desempenho com aeração a 2,5% de CO₂.

É importante destacar que a aeração, enriquecida com CO₂ ou não, é um dos grandes desafios de custo para a operação destes sistemas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021). Para melhorar a eficiência do tratamento de águas residuais com baixas concentrações de carbono e sem a possibilidade de injeção de CO₂, outras fontes de carbono orgânico, como glicose, glicerol, acetato ou etanol podem ser adicionadas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Outros fatores que também influenciam a eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo são as concentrações iniciais de nutrientes, a composição do meio, a intensidade luminosa e as espécies presentes (ASLAN; KAPDAN, 2006; FERNANDES *et al.*, 2017).

Em um levantamento feito por Van der Wiel *et al.* (2019), verificou-se que 47% dos estudos investigam apenas o fósforo; 18%, apenas o nitrogênio; e 21% avaliam nitrogênio e fósforo, sendo que os outros estudos consideram outros nutrientes como o potássio.

Os principais mecanismos envolvidos nos processos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo por microalgas estão destacados na Tabela 3.

Tabela 3 – Principais mecanismos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo por microalgas.

Nutrientes	Mecanismos	Incorporação celular
Carbono na forma de CO_2	Ciclo de Calvin	Difusão para pH entre 5,0 e 7,0 ou transporte ativo para pH > 7,0)
Nitrogênio nas formas de $\text{NO}_3\text{-N}$ e $\text{NO}_2\text{-N}$	Redução em amônio e conversão em aminoácidos	Transporte ativo
Nitrogênio nas formas de $\text{NH}_4\text{-N}$	Conversão em aminoácidos	Transporte ativo
Fósforo na forma $\text{PO}_4\text{-P}$	Fosforilação	Transporte ativo

Fonte: Adaptado de (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

3.3.1.1 Remoção de Nitrogênio

O nitrogênio é um macronutriente essencial para o crescimento das microalgas, sendo necessário para a síntese de peptídeos, proteínas, ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA) (BUX; CHISTI, 2016).

Os principais mecanismos de remoção de nitrogênio através do tratamento com culturas mistas são a assimilação do nitrogênio e os processos de nitrificação e desnitrificação (BUX; CHISTI, 2016; MOHSENPOUR *et al.*, 2021). O nitrogênio na forma de amônio é absorvido primeiro, porém as formas oxidadas do nitrogênio – como o nitrato e nitrito – também podem ser assimiladas e são reduzidas a amônio dentro da célula e incorporadas aos aminoácidos (BUX; CHISTI, 2016; LIU *et al.*, 2017a).

O nitrogênio na forma NH_4^+ pode ser diretamente assimilado pelas microalgas (LIU *et al.*, 2017a). Além disso, a remoção de nitrogênio não ocorre apenas pelo metabolismo celular, mas também pela volatilização da amônia, devido ao aumento do pH e da temperatura (CAI; PARK; LI, 2013). Em pH básico, entre 9 e 11, pode ocorrer volatilização da amônia (NH_3) e precipitação de ortofosfato, influenciando nos valores de remoção de nitrogênio e fósforo (CAI; PARK; LI, 2013; MUÑOZ; GUIEYSSE, 2006).

Do ponto de vista operacional, a geração de NO_x em um sistema de tratamento por microalgas não é vantajosa, pois ele é processado por elas. Nesse sentido, o uso de culturas mistas é mais vantajoso, porém é importante considerar a competição que pode ocorrer entre o processo de nitrificação bacteriana e o uso do nitrogênio para o crescimento de microalga, uma vez que vários autores relatam que aproximadamente 60 a 85% da amônia

é oxidada em nitrato e 13 a 40% é assimilada pelas microalgas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

3.3.1.2 Remoção de Fósforo

O fósforo é um não-metal e pertence à mesma família do nitrogênio na tabela periódica. É um elemento altamente reativo e essencial para vida, encontrado em muitos minerais, principalmente na forma de fosfatos em rochas chamadas fosfáticas (DESMIDT *et al.*, 2015). Os produtos à base de fosfato têm inúmeras aplicações, e aproximadamente 95% da sua produção global é utilizada na agricultura, principalmente na produção de fertilizantes, mas também em pesticidas e suplementos de ração animal (DESMIDT *et al.*, 2015).

Este elemento está presente no esgoto – principalmente como fosfatos –, sendo ortopofosfato, polifosfato ou fosfato orgânico, predominantemente como resultado de atividades humanas, entre elas, o uso de detergentes e a aplicação de fertilizantes na agricultura (BUX; CHISTI, 2016; MUSTAFA *et al.*, 2021).

Nesse sentido, cabe ressaltar que a agricultura é altamente dependente de insumos de fertilizantes inorgânicos, e o fósforo é um recurso finito. Como as rochas fosfáticas atualmente conhecidas estão concentradas em determinados países, é notória existência de um risco geopolítico (VAN DER WIEL *et al.*, 2019).

Ademais, questões econômicas e sociais impactam nos preços dos fertilizantes com consequências econômicas para produtores e consumidores, evidenciando os desafios para se atingir a segurança alimentar em escala global (MEW, 2016; WITHERS *et al.*, 2018). A recente invasão da Ucrânia pela Rússia teve um impacto estimado de 20% nos preços dos alimentos, com o acompanhamento da insegurança alimentar global (LU, 2022). No Brasil, cerca de 60% do fósforo é importado, vinculando a produção agrícola à volatilidade do mercado de fertilizantes (WITHERS *et al.*, 2018).

Portanto, as microalgas podem ser uma fonte secundária de nitrogênio, fósforo e outros macronutrientes, atuando como fertilizantes, fechando o ciclo de nutrientes, minimizando a pressão ambiental (HUSSAIN *et al.*, 2021; SILAMBARASAN *et al.*, 2021; SULEIMAN *et al.*, 2020).

O fósforo é um fator-chave no metabolismo das algas. Ele é encontrado em ácidos nucleicos, lipídios, proteínas e intermediários do metabolismo de carboidratos e está

envolvido na geração de adenosina trifosfato (ATP) a partir de adenosina difosfato (ADP) (CAI; PARK; LI, 2013; LIU *et al.*, 2017a).

O fósforo, também, pode ser removido dos efluentes através da precipitação e adsorção; pode ser hidrolisado em fosfato por enzimas extracelulares secretadas por bactérias e depois removido, o que torna o uso de culturas mistas bastante adequado para a remoção de fósforo (LIU *et al.*, 2017a).

A forma inorgânica do fósforo é considerada a mais biodisponível, sendo reportadas como preferidas pelas microalgas as formas HPO_4^{2-} e H_2PO_4^- . Entretanto o estado iônico do fósforo varia com o pH do efluente, oscilando normalmente como H_3PO_4 para $\text{pH} < 2,15$, H_2PO_4^- para valores de pH entre 2,15 e 7,20, HPO_4^{2-} para valores de pH entre 7,20 e 12,33 e PO_4^{3-} para valores de pH maiores que 12,33 (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

3.3.2 **Remoção de metais pesados**

Um elemento metálico é classificado como metal pesado quando sua densidade atômica é superior a 6 g/cm^3 (AKPOR, 2014) e, diferentemente dos contaminantes orgânicos, os metais pesados não são biodegradáveis, têm tendência à bioacumulação e muitos deles são tóxicos e/ou cancerígenos (FU; WANG, 2011).

Os efeitos tóxicos dos metais e suas características de não biodegradabilidade estão associados à tendência em formar ligações covalentes com elementos não metálicos de macromoléculas celulares, criando ligações dentro de proteínas ou se depositando em grânulos intracelulares (BRIFFA; SINAGRA; BLUNDELL, 2020).

Os metais pesados tóxicos estão entre os poluentes mais persistentes em águas residuais, sendo que os mais comuns são arsênio, chumbo, mercúrio, cádmio, cromo, cobre, níquel, prata e zinco (AKPOR, 2014). A presença de metais pesados em sistemas aquáticos tem duas origens principais: a natural e a antrópica (BURAKOV *et al.*, 2018). As atividades vulcânicas e a erosão do solo são exemplos de fontes naturais de metais, tanto na água como no solo; já as atividades industriais, como a mineração e a energia nuclear são exemplos de origens antrópicas (AKPOR, 2014).

Os metais pesados entram na cadeia alimentar através da absorção pelas plantas e/ou pela ingestão de água contaminada, afetando negativamente a saúde de humanos e animais (BURAKOV *et al.*, 2018).

Diante de regulamentações cada vez mais rigorosas em todo o mundo e das graves consequências para o meio ambiente e para a saúde, os metais pesados, principalmente os tóxicos, devem ser removidos das águas residuais (FU; WANG, 2011).

A resolução CONAMA 430/2011 apresenta padrões de lançamento para parâmetros orgânicos que incluem metais pesados, como chumbo, cromo e mercúrio. Já a resolução CONAMA 357/2005 apresenta uma lista mais ampla de parâmetros inorgânicos que incluem alumínio, cobalto, lítio, entre outros.

A remoção de metais pesados em águas residuais pode ocorrer através de métodos convencionais, como precipitação química, filtração de membrana, troca iônica, remoção eletroquímica, coagulação etc., cujas desvantagens são a remoção incompleta, o alto consumo energético, a baixa eficiência, a geração de lodo tóxico e o descarte caro (BURAKOV *et al.*, 2018).

A literatura dispõe de diversos estudos com várias espécies de microalgas e cianobactérias utilizadas para a remoção de metais em meio aquoso com significativas proporções de remoção (BUX; CHISTI, 2016; MUÑOZ; GUIEYSSE, 2006). Na Tabela 4, estão apresentados alguns exemplos de microalgas usadas na biorremediação de metais, com suas respectivas eficiências.

Tabela 4 – Aplicação de microalgas para a remediação de efluentes industriais.

Microalgas	Metal	Eficiência de remoção	Condições ótimas	Referência
<i>Scenedesmus sp.</i>	Pb ²⁺	83,5 – 84,2%	C = 1 a 2 mg.L ⁻¹	(PHAM et al., 2020)
<i>Chlorella sp.</i>	CN	86%	-	(GURBUZ et al., 2004)
<i>S. obliquus</i>		99%		
<i>S. obliquus</i>	Zn (II)	50%	pH = 10,3	(GURBUZ; CIFTCI; AKCIL, 2009)
	Fe (III)	46%		
<i>Sargassum sp.</i>	Ni ²⁺	1,69 mmol.g ⁻¹	pH = 5	(BARQUILHA et al., 2017)
	Cu ²⁺	2,06 mmol.g ⁻¹	T = 30°C	

Abreviaturas: C – concentração (mg.L⁻¹)

Fonte: Adaptado de (MUSTAFA et al., 2021)

A biorremediação é um processo com vantagens econômicas e tem, como principais mecanismos de remoção de metais pesados por microrganismos, a precipitação, a complexação, a troca iônica e a bioacumulação (AKPOR, 2014; MUÑOZ; GUIEYSSE,

2006). O potencial de remoção dos metais pelas algas é influenciado por fatores físico-químicos, principalmente pH, salinidade e dureza da água (BUX; CHISTI, 2016).

Alguns metais são necessários para o crescimento das microalgas, pois atuam como micronutrientes; outros têm funções biológicas ainda desconhecidas, além do mais podem ser tóxicos dependendo da sua concentração e da espécie de microalga. Não obstante, é importante destacar que algumas espécies têm afinidades com metais polivalentes, portanto, possuem potencial de aplicação no tratamento de águas residuais, contendo íons metálicos dissolvidos (GULDHE *et al.*, 2017).

Os metais pesados são potentes inibidores da fotossíntese, pois podem substituir ou bloquear os átomos de metais protéticos nos locais ativos de certas enzimas. No entanto, no consórcio com bactérias, os grupos funcionais ácidos das paredes celulares bacterianas também podem vincular concentrações significativas desses cátions metálicos (SUBASHCHANDRABOSE *et al.*, 2011).

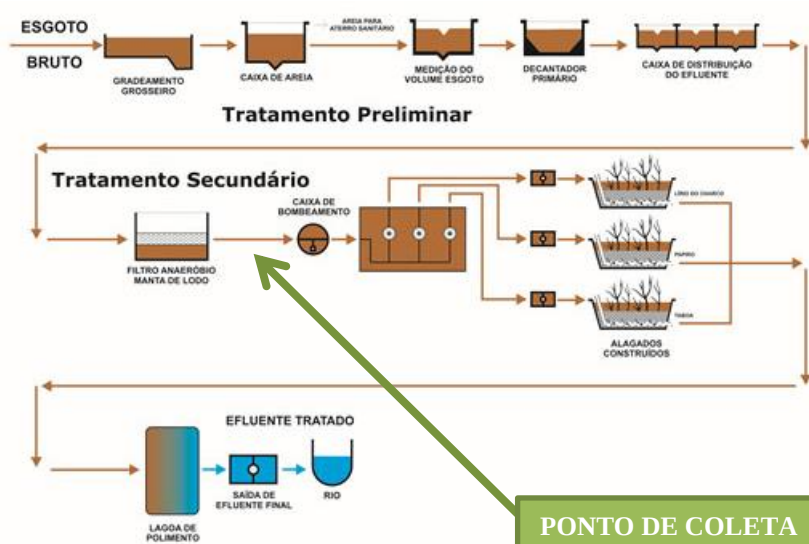
4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Cultivo da Comunidade Mista

A comunidade mista de microalgas nativas utilizada neste estudo foi obtida através do enriquecimento da comunidade nativa do efluente tratado da ETE Tibiriçá, localizada em Bauru/SP.

A ETE tem vazão média de $6,0 \text{ L.s}^{-1}$ e é composta por gradeamento, caixa desarenadora, medidor de vazão do tipo calha Parshall, decantador primário, filtro anaeróbio de manta de lodo com fluxo ascendente, *wetlands* construídos e lagoa de polimento.

Figura 1 – Fluxograma da ETE Tibiriçá.



Fonte: Adaptado de DAE Bauru/SP.

O efluente foi coletado na saída do filtro anaeróbio da ETE, conforme Figura 1, e transportado para laboratório para cultivo. O enriquecimento foi realizado por inoculação

em série de 10% (v/v), em fase estacionária recente, utilizando Erlenmeyer de 1,0 L, sem adição de ar comprimido e com armazenado em uma sala climatizada com fotoperíodo de 12/12 horas, temperatura média 24 ± 2 °C e luminosidade de $38 \pm 17 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Os principais parâmetros médios do efluente utilizado estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Caracterização do efluente secundário da ETE Tibiriçá

Parâmetro	Valor médio	Metodologia
pH	$7,1 \pm 0,1$	Método 4500-HB (medição por sonda portátil) (APHA, 2012)
Demanda Química de Oxigênio (DQO – $\text{mg L}^{-1} \text{O}_2$)	$185,3 \pm 42,5$	Kit DQO reagente COD TNT® Hach
N_{total} (mg L^{-1})	$34,8 \pm 1,1$	Kit Pillow Método DR/5000 Hach e Medidor Multiparametro Hach HQ-40d
P_{total} (mg L^{-1})	$4,3 \pm 0,3$	Kit Fósforo Total conj reagentes TNT® Hach
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	$1,2 \pm 0,6$	Método 4500-O (medição por sonda portátil) (APHA, 2012)

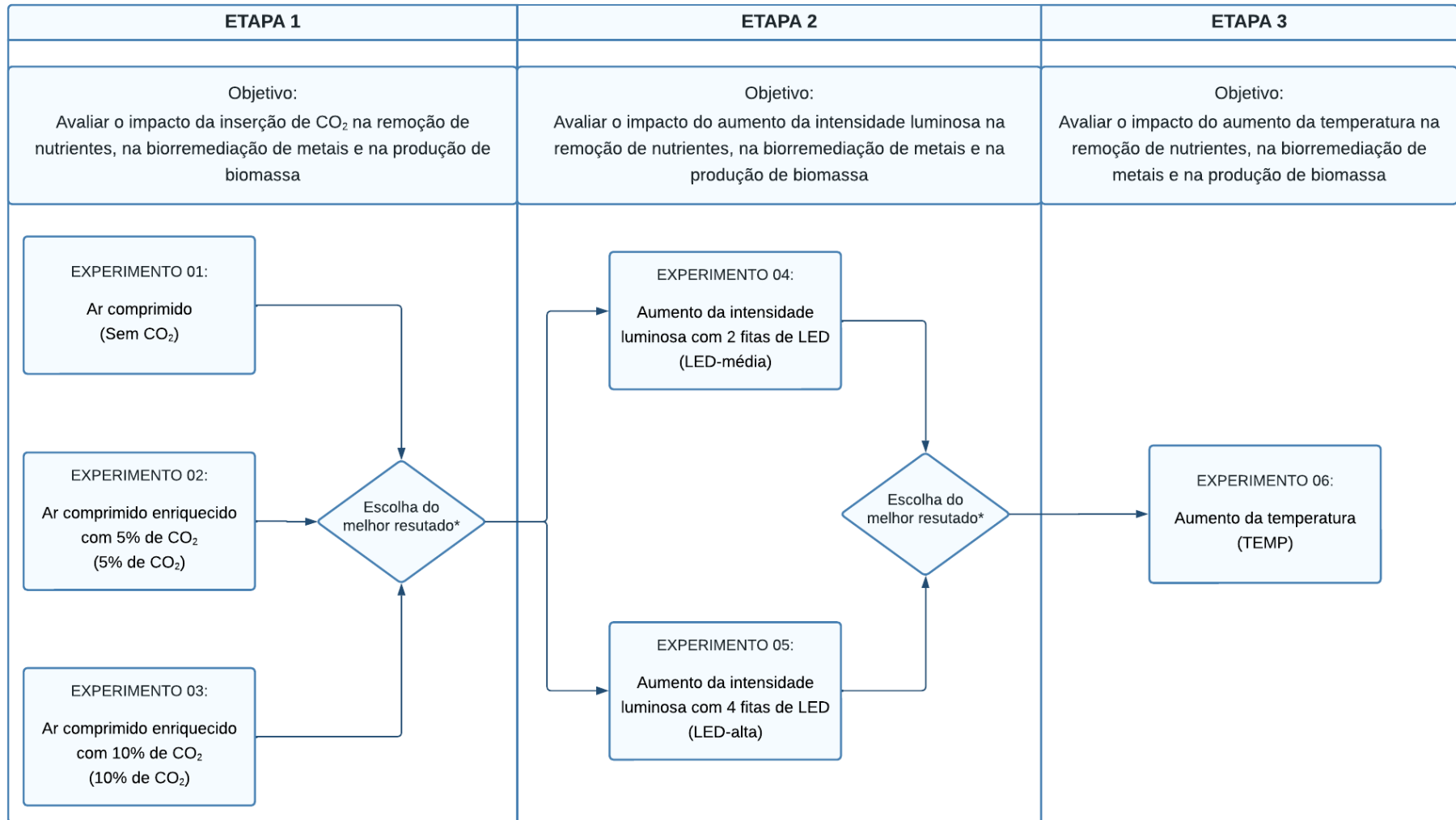
A caracterização do efluente utilizado para o cultivo é importante para determinar se os nutrientes necessários para o crescimento da cultura estão disponíveis em quantidades adequadas. Através dos valores da Tabela 5, observamos que a relação mássica C:N:P é de 129/24/3, valores próximos aos efluentes anaerobiamente tratados usados por outros autores, como por exemplo, Cabanelas *et al.* (2013), cuja relação era 100/23/3 com cultivo de *Chlorella vulgaris*, e Su; Mennerich; Urban (2011), com relação 100/20/3,5 para consórcio de algas e bactérias. Todavia é importante destacar que as microalgas podem ser cultivadas em águas residuais com diferentes concentrações de nutrientes (KOMOLAFE *et al.*, 2014).

4.2 Configuração Experimental

Para a determinação das condições ótimas de crescimento, remoção de nitrogênio e fósforo e potencial de biorremediação de metais, foram realizadas três etapas a fim de

avaliar os efeitos da variação de parâmetros de inserção de ar, sem e com enriquecimento contínuo de CO₂, intensidade luminosa e temperatura na atividade da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias. Todas as etapas foram realizadas em escala laboratorial, em bateladas com triplicatas biológicas em condições controladas, conforme fluxograma apresentado na Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma da configuração experimental.



*melhor resultado definido como o experimento que apresenta maior taxa de remoção de nutrientes e maior produção de biomassa.

Os experimentos foram realizados em reatores cilíndricos, do tipo Schott, de 2,0L de volume operacional, em triplicata biológica através da inoculação de 10% (v/v) da cultura mista nativa em fase estacionária recente, com concentração na ordem de 10^6 células.mL⁻¹.

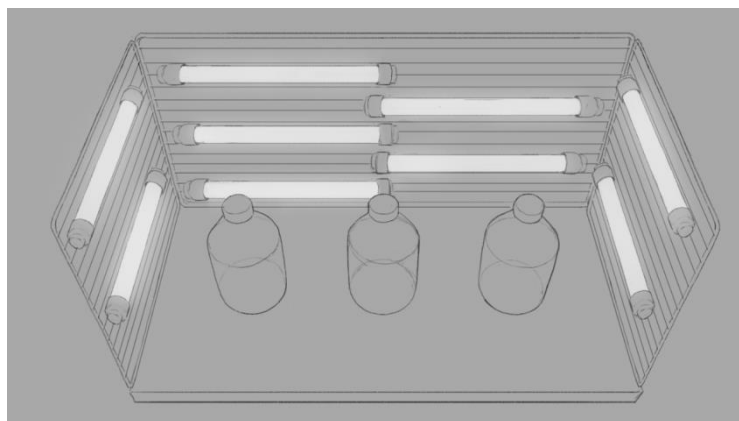
Os reatores foram conectados a um sistema de aeração composto por um compressor de ar (Ar Direto G3, Chiaperini) e um cilindro de gás carbônico, mangueiras de distribuição de poliuretano e medidores de vazão do tipo fluxômetros com capacidade de controle de 0 a 3 L.min⁻¹ (RWR, São Paulo, Brasil). A aeração foi constante em todas as etapas, durante 24 horas por dia.

A intensidade luminosa foi fornecida por cinco lâmpadas LED (Brilia 300194, 3000K) e fitas de LED (120LEDS, 6000K), com 5m cada, dispostas horizontalmente, conforme Figura 3. O fotoperíodo foi de 12/12 horas claro/escuro e as lâmpadas acendiam-se às 6 horas da manhã e apagavam-se às 18 horas. A intensidade luminosa foi medida com o uso do analisador de gases por infravermelho IRGA modelo LCpro-SD da [®]ADC Bioscientific (Hoddesdon, Inglaterra), em $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A temperatura foi controlada por ar-condicionado e foi medida através de sensor datalogger (Hobo[®] UA-002-64, ONSET) em °C.

Os experimentos tiveram um tempo máximo de sete dias, sendo a inoculação no dia zero e o final do experimento quando a remoção de fósforo total foi superior a 95%.

As amostras foram coletadas com o uso de seringa ligada ao tubo de vidro dentro do reator, diariamente, às 9:00 h da manhã.

Figura 3 – Esquema do aparato experimental para o cultivo da cultura mista nativa.



4.2.1 ***Etapas 1 - Influência da inserção de CO₂***

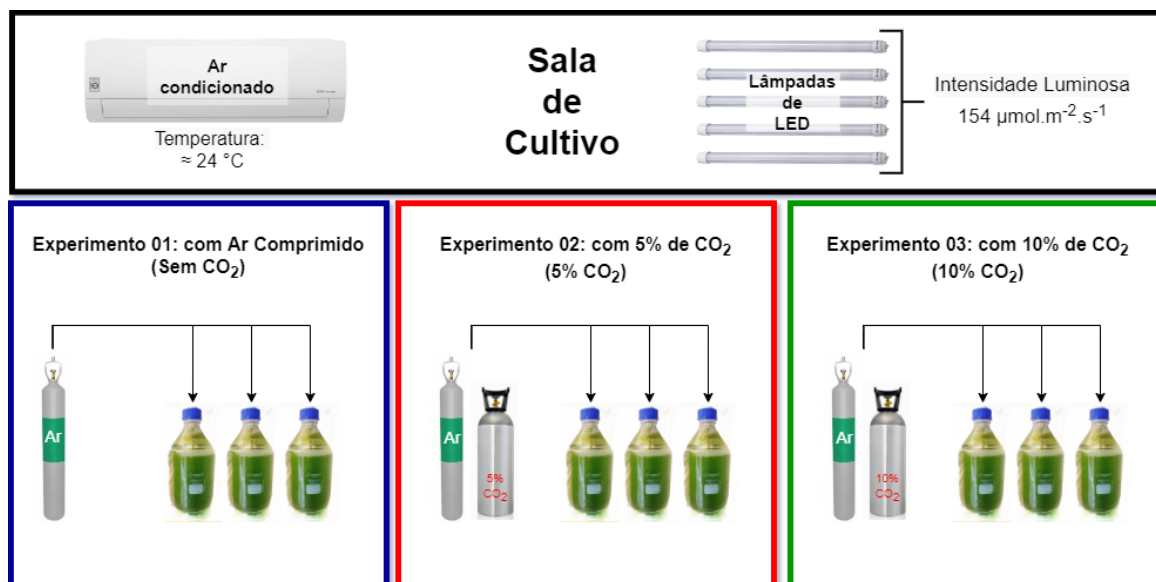
Para avaliar a influência da inserção de ar e do enriquecimento com CO₂, três experimentos distintos foram realizados em bateladas separadas e em sequência. O primeiro experimento foi realizado utilizando aeração forçada constante, com vazão de ar de 1,0 L min⁻¹ por reator, através de bastões de vidro com difusores porosos na extremidade.

O estudo realizado por Liu *et al.* (2017b) para avaliação do impacto do CO₂ no crescimento de *Chlorella vulgaris* e na remoção de nutrientes demonstrou que as maiores produções de biomassa ocorreram com adição de 5% e 10%. Portanto, para o segundo experimento, o ar foi enriquecido com 5% de gás carbônico, mantendo a mesma vazão de ar total de 1,0 L min⁻¹ por reator. Já o terceiro experimento foi realizado em condições semelhantes, porém com enriquecimento de 10% de CO₂.

Os três experimentos foram realizados na mesma sala de cultivo e em condições semelhantes, sendo que a temperatura média variou entre 24±2 °C e 26±3 °C e a intensidade luminosa foi de 153±2 µmol.m⁻².s⁻¹, com fotoperíodo de 12 horas.

A Figura 4 apresenta os experimentos realizados na Etapa 1.

Figura 4 – Representação esquemática da Etapa 1.



A duração de cada experimento foi determinada pela taxa de remoção de fósforo, considerando-se concluído o teste quando a remoção de fósforo total foi igual ou superior a

95%. Após esse período, todos os parâmetros foram comparados para determinar qual das três condições apresentou desenvolvimento da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias, bem como remoção de nutrientes e biorremediação de metais pesados.

A melhor condição foi escolhida com base nas taxas de remoção de nutrientes e produção de biomassa de cada um dos três experimentos, e a condição definida como ótima foi utilizada na Etapa 2.

4.2.2 *Etapa 2 - Intensidade luminosa*

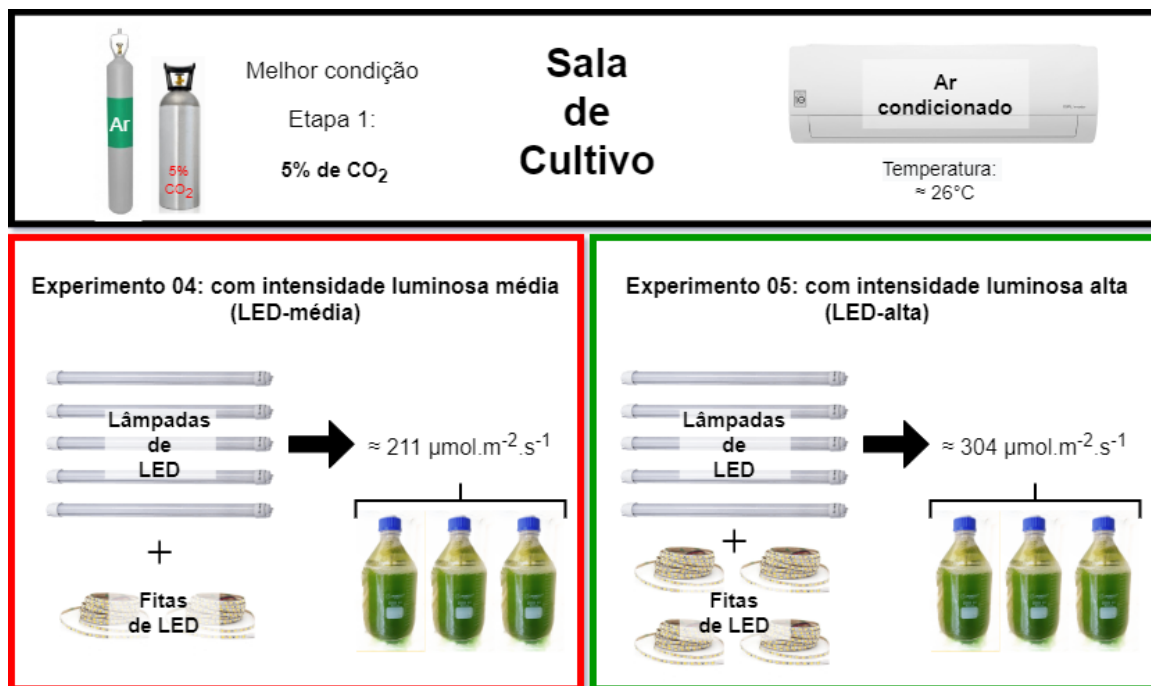
Utilizando a melhor condição de inserção de ar determinada na Etapa 1, duas novas condições de intensidade luminosas foram testadas.

O primeiro experimento de intensidade luminosa foi realizado utilizando apenas as cinco lâmpadas de LED, conforme descrito no item 4.2.1. Para a realização do segundo experimento de intensidade luminosa, além das lâmpadas de LED, foram utilizadas duas fitas de LED com 5m cada, recebendo a denominação de LED-média. Para o terceiro experimento, outras duas fitas de LED foram adicionadas, totalizando 4 fitas de LED, a que se denominou LED-alta.

Os experimentos foram realizados na mesma sala de cultivo e em condições semelhantes, com 5% de CO₂ em todos os experimentos dessa etapa; a temperatura variou entre 25±5 °C e 26±8 °C.

A Figura 5 apresenta os dois experimentos realizados na Etapa 2, considerando o melhor resultado da Etapa 1.

Figura 5 – Representação esquemática da Etapa 2.



A duração de cada experimento foi atrelada à taxa de remoção de fósforo total igual ou superior a 95%, conforme Etapa 1. A melhor condição foi escolhida com base nas taxas de remoção de nutrientes e produção de biomassa de cada um dos experimentos, sendo utilizada na Etapa 3 a condição definida como ótima.

4.2.3 ***Etapa 3 - Temperatura***

A temperatura desempenha um papel importante no crescimento das microalgas, e a complexidade de sua influência merece especial destaque, dada a diversidade de modelos encontrados na literatura (DARVEHEI; BAHRI; MOHEIMANI, 2018). O modelo desenvolvido por Bernard & Rémond (2012) para diferentes espécies de microalgas sugere que o aumento da temperatura conduz ao aumento da taxa de crescimento até um determinado ponto ótimo; porém, após esse ponto, o contínuo aumento da temperatura leva a uma brusca queda na taxa de crescimento.

Para realização desta etapa, o cultivo foi submetido à temperatura de $38 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, com inserção de ar e intensidade luminosa determinados nas Etapas 1 e 2 respectivamente.

A Figura 6 apresenta o experimento realizado na Etapa 3, considerando os melhores resultados das Etapas 1 e 2.

Figura 6 – Representação esquemática da Etapa 3.



4.3 Métodos Analíticos

As amostras foram avaliadas pelos parâmetros sólidos em suspensão totais (SST): clorofila *a*, nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrato, nitrogênio total, fósforo total, número de células, valor de pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade total, demanda química de oxigênio (DQO), densidade óptica, além de concentração de metais para determinação das taxas de crescimento da comunidade microalgal e atividade de remoção de nutrientes. A forma de preparo das amostras, a frequência e os métodos utilizados estão dispostos na Tabela 6:

Tabela 6 - Parâmetros analisados para monitorar o tratamento utilizando microalgas.

Parâmetro	Amostra	Frequência	Método
Sólidos em suspensão totais (SST)	Bruta	Inicial e final	Método 2540 (APHA, 2012)
Densidade Óptica	Bruta	Diária	(GRIFFITHS et al., 2011; KLIPHUIS et al., 2010)
pH	Bruta	Diária	Método 4500-HB (medição por sonda portátil) (APHA, 2012)
Alcalinidade total	Bruta	Inicial e final	Titulação potenciométrica com ácido sulfúrico (RIPLEY; BOYLE; CONVERSE, 1986)
Clorofila <i>a</i>	Bruta	Diária	Método 10200-H (APHA, 2012)
Densidade celular	Bruta	Diária	Microscópio óptico (Nikon® – Alphaphot 2 YS2)/ Câmara de Contagem de Fuchs Rosenthal (KASVI)
Fósforo total	Filtrada	Diária	Método 4500-P (APHA, 2012)
Nitrogênio total	Filtrada	Diária	Kit NANOCOLOR® Nitrogênio Kjeldahl total TKN 16
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	Filtrada	Diária	Kit NANOCOLOR® Nitrogênio Kjeldahl total TKN 16
Nitrato	Filtrada	Diária	Kit NANOCOLOR® Nitrogênio Kjeldahl total TKN 16
DQO	Filtrada	Inicial e final	Método 5220-D (APHA, 2012)
Metais	Filtrada	Inicial e final	BRAGA et al., 2017; SILVA et al., 2021

As análises foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental, no Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UNESP, em Bauru/SP.

Todos os procedimentos de análises e armazenamentos seguiram o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

As análises de pH, oxigênio dissolvido (OD), alcalinidade e densidade óptica (DO) foram realizadas imediatamente após a coleta das amostras em cada um dos reatores da triplicata biológica. As análises de densidade óptica (DO) foram realizadas nos comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm (DE WILT *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2014).

As amostras para análise de nutrientes (nitrogênio total, NTK, nitrato e fósforo total), metais pesados e DQO foram filtradas em membrana de mistura de ésteres com poros de Ø 0,45µm. Para análise de metais pesados em solução, as amostras filtradas foram preservadas com ácido nítrico concentrado de alta pureza (65% Suprapur Merk, Germany) a um pH<2 e armazenada em freezer a -4 °C. A digestão das amostras foi realizada em micro-ondas (Four Speed, Berghof GmbH, Alemanha) e analisadas por espectrometria de emissão óptica plasmática indutivamente acoplado - ICP/OES (Optima 8000, Perkin Elmer, EUA) (BRAGA *et al.*, 2017). Os metais analisados foram: Al (396.153 nm radial), Ba (233.527 nm axial), Cd (228.802 nm axial), Co (228.616 nm axial), Cr (267.716 nm axial), Cu (327.393 nm axial), Fe (238.204 nm radial), Mn (257.610 nm radial), Ni (231.604 nm axial), Pb (220.353 nm axial), Se (196.026 nm axial), Zn (206.200 nm axial), K (766.490 nm radial), Mg (285.213 nm radial) e P (213.617 nm axial).

Para as análises de clorofila *a*, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro GF/F Ø 0,7µm, imediatamente após a coleta e armazenadas em freezer a -4 °C.

Para análise de sólidos em suspensão totais, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro GF/C Ø 1,2µm e pesadas em balança analítica. A densidade celular é obtida através da contagem das células de microalgas e foi realizada em microscópio óptico, utilizando uma câmara de Contagem de Fuchs Rosenthal (KASVI), em que os valores obtidos são multiplicados pelo fator de conversão para determinação do número de células por mililitro. A identificação das espécies não foi realizada, porém os gêneros de microalgas predominantes são *Chlorella* e *Scenedesmus*.

4.4 Análise dos Resultados

A atividade da comunidade mista foi analisada em termos da remoção de nutrientes e quantidade de biomassa produzida. Após a determinação dos valores, os resultados foram analisados através do cálculo da média e do desvio padrão utilizando o programa Excel[®].

Para avaliar se existem diferenças significativas entre os valores médios das taxas de crescimento, remoção e produção de biomassa, foi utilizado o método estatístico de “Comparação de médias de duas Amostras” (MILLER & MILLER, 1993), no qual, para determinação do valor “t de Student”, usa-se a média da amostra, o desvio padrão e o número de amostras, considerando um nível de confiança de 95%. Ao calcular o grau de liberdade, é possível usar uma tabela cuja finalidade é definir o valor de t_{tabelado} para um valor de significância $p = 0,05$. Quando o valor calculado for menor que o valor tabelado, a variável de estudo não apresenta diferença significativa ao nível $p = 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às três etapas descritas no Capítulo 4 - Materiais e Métodos são apresentados neste Capítulo 5 - Resultados e Discussão. Cada etapa tem discussões específicas, dadas as suas características únicas e também discussões conjuntas devido à influência da etapa anterior na seguinte e, conseqüentemente, nos objetivos finais desse estudo.

5.1 Etapa 1: Avaliação da Inserção de Ar com Enriquecimento de CO₂

Esta etapa experimental foi realizada em bateladas distintas com triplicatas biológicas, em três condições diferentes. O final da batelada de cada experimento foi baseado no valor de remoção de fósforo total, o experimento foi dado como encerrado ao atingir 95% de remoção de fósforo total. O primeiro experimento, chamado de “Sem CO₂”, foi realizado com inserção de ar comprimido, e sua duração foi de sete dias com aproximadamente 98% de remoção de fósforo. O segundo experimento, chamado de “5% CO₂”, foi realizado com ar enriquecido com 5% de CO₂, e sua duração foi de quatro dias com aproximadamente 96% de remoção de fósforo total e o terceiro experimento, chamado de “10% CO₂”, foi realizado com ar enriquecido com 10% de CO₂, cuja duração foi de sete dias e a remoção de cerca de 98%.

No caso do experimento 5% CO₂, embora a remoção superior a 95% do fósforo total tenha acontecido no quarto dia, o acompanhamento analítico ocorreu por sete dias para um volume maior de dados, possibilitando uma melhor análise de tendências, e a remoção obtida no dia sete foi de aproximadamente 98%.

Os três experimentos foram conduzidos utilizando aeração forçada constante, com vazão de ar de $1,0 \text{ L min}^{-1}$ por reator, através de bastões de vidro com difusores porosos na extremidade.

Os experimentos foram realizados em sequência cronológica e na Tabela 7 estão apresentados os valores médios de temperatura e intensidade luminosa, além da dos efluentes da Etapa 1.

Tabela 7 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 1.

Parâmetros	Experimento 1 (Sem CO ₂)	Experimento 2 (5% CO ₂)	Experimento 3 (10% CO ₂)
Enriquecimento com CO ₂	Não	5%	10%
Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	154±2	154±2	154±2
Temperatura (°C)	26±3	26±3	24±2
pH	7,06±0,01	7,08±0,05	7,02±0,01
Alcalinidade ($\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	96,6±1,5	100,8±3,0	83,0±3,0
P _{total} (mg.L^{-1})	3,52±0,01	3,81±0,18	2,95±0,19
N _{total} (mg.L^{-1})	33,80±1,41	33,80±1,13	27,75±1,20
DQO (mg.L^{-1})	150,3±14,1	222,0±106,1	180,3±4,7
SST (g.L^{-1})	0,06±0,01	0,08±0,01	0,07±0,02

Os parâmetros apresentados na Tabela 7 não apresentaram variação significativa ($p>0,05$) entre os experimentos. A DQO e a alcalinidade foram os parâmetros que apresentaram diferença entre os experimentos realizados nesta Etapa, porém pequenas diferenças eram esperadas por usar efluente real oriundo de uma estação de tratamento de esgoto.

A hipótese levantada com base na literatura era que o cultivo apresentaria maior produção de biomassa com adição de 5% de CO₂ (LIU *et al.*, 2017c; RYU; OH; KIM, 2009) a qual foi confirmada após a execução da Etapa 1.

A revisão de literatura realizada por Chia *et al.* (2021) analisa mecanismos de mitigação e mediação de CO₂ através do uso de consórcios de microalgas e bactérias e reforça a necessidade da concentração adequada de CO₂ para o bom desempenho desses cultivos, associando a diminuição do teor de carotenoides aos níveis mais altos de CO₂.

Os resultados obtidos relativos a pH, alcalinidade, densidade óptica, sólidos em suspensão, clorofila *a*, densidade celular, remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e remoção de metais durante a Etapa 1 são discutidos nos itens de 5.1.1 até 5.1.5.

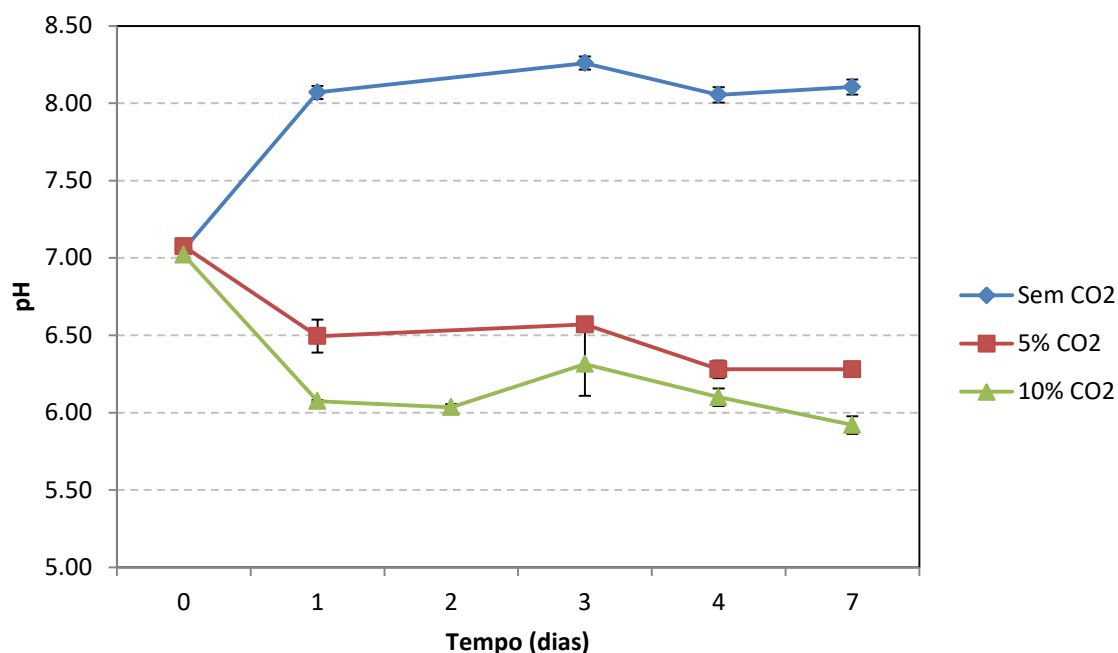
5.1.1 pH e Alcalinidade

Os dados de monitoramento do pH para os três experimentos da Etapa 1 estão apresentados na Figura 7. É importante destacar que, durante a realização dos experimentos, nenhuma ação específica de controle dos valores de pH foi adotada, ou seja, os valores de pH variaram conforme condições do próprio experimento.

É possível observar o impacto da adição de CO₂ na diminuição dos valores do pH nos experimentos 2 e 3 (5% CO₂ e 10% CO₂), pois em meio aquoso ocorre a formação de HCO₃⁻ com liberação de H⁺ (ANDRADE; CAMERINI; COSTA, 2008; KAYA *et al.*, 1996). Os menores valores de pH ocorreram no experimento enriquecido com 10% de CO₂, conforme esperado, atingindo o valor de $5,92 \pm 0,06$ no dia 7.

O aumento dos valores de pH observado no experimento 1 (Sem CO₂) podem ser explicado pela atividade fotossintética, que utiliza os íons H⁺ para fixação do carbono orgânico (REYNOLDS, 2006).

Figura 7 – Variação dos valores de pH em função do tempo para os experimentos da Etapa 1.



Segundo Mohsenpour *et al.* (2021), a maioria das espécies de microalgas de água doce têm sua faixa de pH ideal entre 7 e 9. Ambientes fora dessa faixa podem impactar negativamente na taxa de crescimento algal e na sua capacidade de remediação de nutrientes do meio.

Entretanto, para comunidades mistas de microalgas e bactérias, como é o caso da utilizada neste trabalho, vários estudos relatam forte correlação entre os valores de pH e o crescimento das bactérias, demonstrando uma redução das suas atividades com o aumento do pH (MOHSENPOUR *et al.*, 2021). A pesquisa realizada por Sutherland *et al.* (2015) relatou a diminuição da remoção de nitrogênio inorgânico dissolvido com o aumento do pH em lagoas de alta taxa, cujo pH – entre 6,5 e 7,0 – resultou em uma remoção aproximada de 62%; enquanto, nas lagoas com pH 7,5 a 8,0, a remoção foi de aproximadamente 50%.

É possível observar um comportamento semelhante neste estudo, ao se observarem as porcentagens aproximadas de remoção de nitrogênio inorgânico de 84% para o Experimento 1, com maiores valores de pH, conforme Figura 7; 87% para o Experimento 2; e 90% para o Experimento 3, com menores valores de pH.

A alcalinidade é a capacidade de neutralização de ácidos, ou seja, atua como um tampão, controlando variações dos valores de pH da amostra (CAMPOS *et al.*, 2013; GARCEZ, 2004).

Os valores de alcalinidade inicial e final estão apresentados na Tabela 8:

Tabela 8: Valores de alcalinidade inicial e final para os experimentos da Etapa 1.

Experimento	Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	
	Inicial	Final
1 (Sem CO ₂)	96,6±1,5	43,6±2,2
2 (5% CO ₂)	100,8±3,0	57,8±4,5
3 (10% CO ₂)	83,0±3,0	57,1±9,7

O Experimento 1 apresentou também o maior consumo da alcalinidade, aproximadamente 55%, o que indica uma possível deficiência na quantidade de carbono em relação aos Experimentos 2 e 3 (5 e 10% de CO₂), nos quais há suplementação de carbono na forma de gás carbônico.

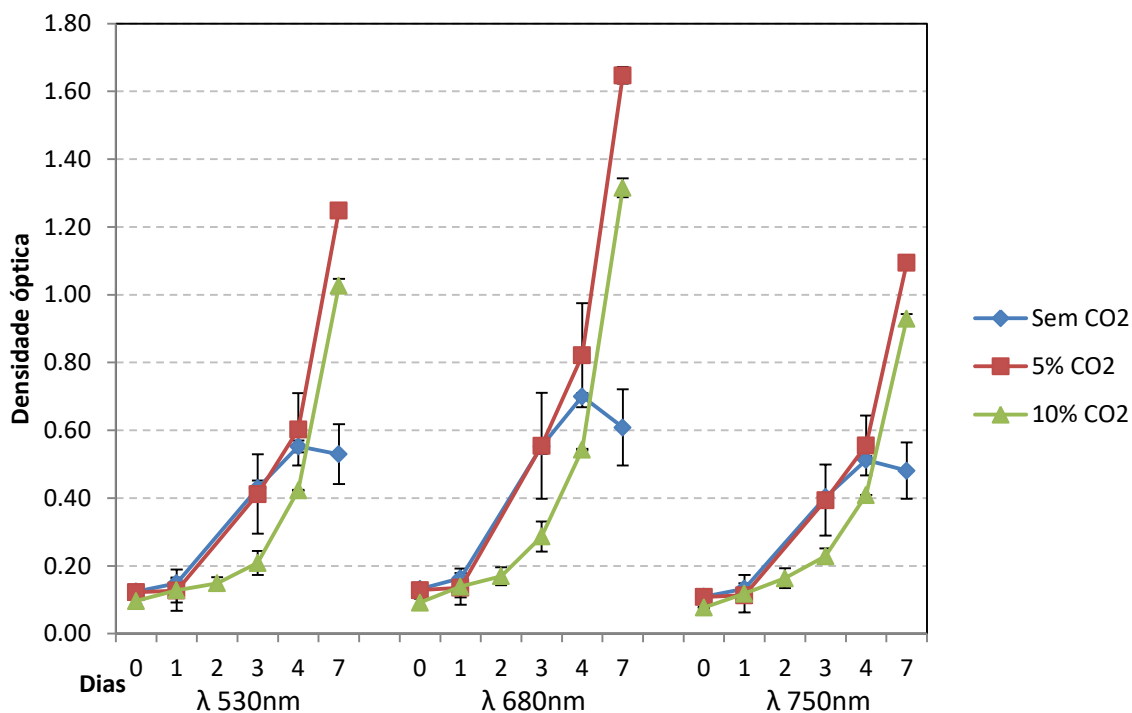
Embora a alcalinidade tenha diminuído nos três experimentos – o que indica o consumo de carbono inorgânico pela cultura, na forma de carbonatos e bicarbonatos presentes no efluente (SLOMPO *et al.*, 2020) –, os Experimentos 2 e 3, com enriquecimento de 5 e 10% de CO₂ respectivamente, mantiveram uma alcalinidade maior, pois esta é influenciada pelas concentrações de OH⁻, HCO₃⁻ e CO₃⁻² (LEITE; HOFFMANN; DANIEL, 2019).

5.1.2 **Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)**

A densidade óptica pode ser usada como um indicador não destrutivo da biomassa em culturas de diferentes microrganismos, porém há pouco consenso na literatura sobre qual comprimento de onda usar em cultivos de microalgas (GRIFFITHS *et al.*, 2011).

Na Figura 8, estão apresentadas as variações dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm para os três experimentos da Etapa 1, subtraídos os valores do efluente tratado anaerobiamente antes da inoculação.

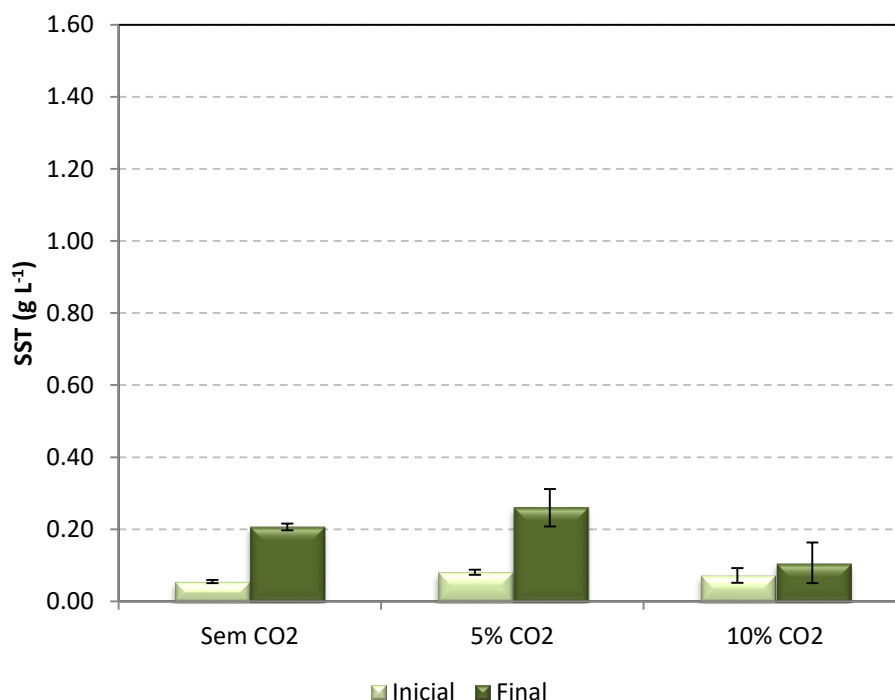
Figura 8 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm em função do tempo para Etapa 1.



Nos três comprimentos de onda acompanhados, o experimento com 5% de CO₂ obteve os maiores valores a partir do terceiro dia. A densidade óptica no comprimento de onda de 750 nm pode ser utilizada como um indicador indireto do crescimento da biomassa (DE WILT *et al.*, 2016; GRIFFITHS *et al.*, 2011), o que evidencia uma maior produção de biomassa no Experimento 2, com ar enriquecido com 5% de CO₂.

Os valores médios de sólidos em suspensão totais obtidos no início e no final, após 7 dias, para cada um dos três experimentos que compuseram a Etapa 1 estão demonstrados na Figura 9.

Figura 9 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final de cada experimento para Etapa 1.



As informações contidas nas Figuras 8 e 9 reafirmam o aumento da biomassa produzida com o acréscimo de CO₂ previsto por LIU et al., (2017c), no entanto para o caso da cultura mista nativa de microalgas e bactérias utilizada neste estudo, o maior valor de produção de biomassa na forma de sólidos em suspensão totais ocorre com adição de 5% de CO₂.

O cálculo da taxa de produtividade (g.L⁻¹.d⁻¹) também foi realizado utilizando os valores de sólido em suspensão totais (SST) conforme Equação 1:

Equação 1 – Estimativa da taxa de produtividade da cultura em g.L⁻¹.d⁻¹.

$$P = \frac{(X_1 - X_0)}{t_1 - t_0}$$

Onde:

X₁ – maior valor de biomassa medido na batelada (g.L⁻¹)

X₀ – valor inicial de biomassa medido na batelada (g.L⁻¹)

t₁ – dia em que ocorreu o maior valor de biomassa medido na batelada (dia)

t₀ – dia do início da batelada (dia)

O estudo realizado por Liu *et al.*, (2017c) com variação da concentração de CO₂ para cultura de *Chlorella vulgaris* em efluente secundário doméstico filtrado – o qual realizou-se sob iluminação de 42 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fotoperíodo de 14:10 claro:escuro e temperatura média de 25°C – foi utilizado como comparação com os valores calculados para este trabalho. Essas comparações estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Comparação entre os valores de produção de biomassa para cada experimento para Etapa 1.

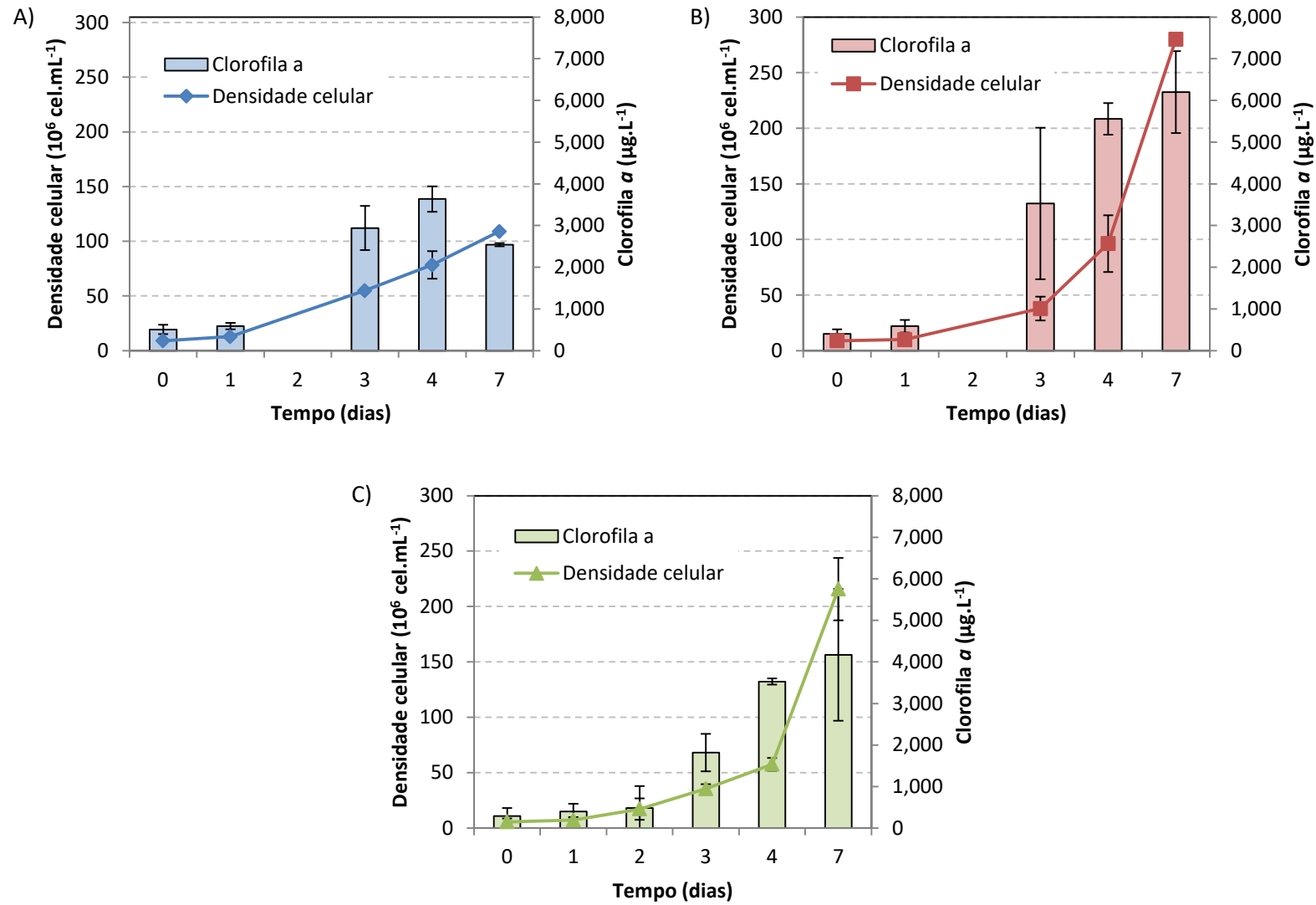
Experimento	Produção de biomassa (g.L⁻¹.dia⁻¹)	Referência
<i>C. vulgaris</i> com ar	0,03	(LIU <i>et al.</i> , 2017c)
<i>C. vulgaris</i> com 1% de CO ₂	0,10	(LIU <i>et al.</i> , 2017c)
<i>C. vulgaris</i> com 5% de CO ₂	0,15	(LIU <i>et al.</i> , 2017c)
<i>C. vulgaris</i> com 10% de CO ₂	0,17	(LIU <i>et al.</i> , 2017c)
<i>C. vulgaris</i> com 20% de CO ₂	0,10	(LIU <i>et al.</i> , 2017c)
Sem CO ₂	0,02	Este trabalho
5% de CO ₂	0,07	Este trabalho
10% de CO ₂	0,01	Este trabalho

A discrepância entre os valores de produção de biomassa calculados pela Equação 1 e encontrados por Liu *et al.* (2017c) para o uso de ar sem enriquecimento de CO₂ foi bastante pequena. Todavia, ao acrescentarmos CO₂ no experimento, as taxas de produção de biomassa começaram a divergir desta literatura, provavelmente em razão das diferenças de delineamento experimental, como o fotoperíodo, o efluente utilizado (filtrado, para o caso da cultura pura) e da biodiversidade da comunidade mista utilizada neste estudo, fator que pode impactar significativamente os valores de biomassa obtidos, dada a provável diferença entre os gêneros dominantes, que apresentam diferentes necessidades de temperatura e intensidade luminosa.

5.1.3 ***Densidade celular, clorofila *a* e cálculo da taxa de crescimento***

A densidade celular é usada para monitorar o crescimento das microalgas (KOMOLAFE *et al.*, 2014). Os valores da densidade celular e clorofila *a* para os experimentos da Etapa 1 estão apresentados nas Figura 10 A) para o Experimento 1, em que foi utilizado apenas ar comprimido; Figura 10 B) em que o ar comprimido foi enriquecido com 5% de CO₂; e Figura 10 C) em que o ar comprimido foi enriquecido com 10% de CO₂.

Figura 10 – Valores médios de densidade celular e clorofila *a* em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO₂; B) com 5% de CO₂ e C) com 10% de CO₂.



Conforme previsto por Kaya *et al.*, (1996), concentrações de CO₂ maiores que a atmosférica conduzem ao aumento da clorofila *a*, conforme observamos na Figura 10. A maior concentração de clorofila *a* foi obtida no Experimento 2 (5% CO₂), com valor de 5.559,84±378,02 µg.L⁻¹ no quarto dia (remoção de fósforo total maior que 95%).

O estudo realizado por Fallahi *et al.* (2020) investigou os aspectos de crescimento, seus efeitos biológicos e a composição da biomassa de espécies de microalgas marinhas e de água doce, para comparação entre culturas puras e uma cultura mista. Foi utilizado efluente secundário filtrado e autoclavado, para evitar contaminação biológica; a intensidade luminosa utilizada foi de 104 µmol.m⁻².s⁻¹ e a temperatura de 32°C, porém sem enriquecimento de CO₂. A comparação entre os valores de clorofila *a* obtidos neste trabalho – quando o experimento atingiu um valor igual ou superior a 95% de remoção de fósforo total dissolvido – e os valores da bibliografia estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Comparação entre os valores de clorofila *a* para cada experimento para Etapa 1.

Experimento	Clorofila <i>a</i> (mg.L ⁻¹)	Referência
<i>C. vulgaris</i>	2,21 ± 0,3	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>S. obliquus</i>	2,07 ± 0,5	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	2,42 ± 0,7	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
Cultura mista	3,50 ± 0,8	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
1 (Sem CO ₂)	2,54 ± 0,04	Este trabalho
2 (5% de CO ₂)	5,56 ± 0,38	Este trabalho
3 (10% de CO ₂)	4,17 ± 1,59	Este trabalho

A taxa de crescimento específico foi calculada conforme Guillard (1973), demonstrada na Equação 02:

Equação 2 – Fórmula para cálculo da taxa de crescimento específico (d^{-1}):

$$\mu = \frac{\left(\ln N_2 / N_1 \right)}{t_2 - t_1}$$

Onde:

N – corresponde a contagem de células nos dias t_2 e t_1 .

A taxa de crescimento na fase exponencial representa o maior valor de crescimento que a cultura atingirá nas condições de cultivo. Os valores das taxas de crescimento calculados para cada um dos dias de experimento estão demonstrados na Tabela 11:

Tabela 11 – Taxas de crescimento diária μ (d^{-1}) para os experimentos da Etapa 1.

Tempo (dias)	μ (d^{-1})		
	Experimento 1 (Sem CO ₂)	Experimento 2 (5% CO ₂)	Experimento 3 (10% CO ₂)
1	0,36±0,03	0,12±0,03	0,29±0,19
2	-	-	0,81±0,22
3	0,72±0,01	0,66±0,12	0,81±0,47
4	0,35±0,18	0,94±0,02	0,49±0,22
7	0,11±0,05	0,36±0,09	0,44±0,08

O estudo realizado por Liu *et al.*, (2017c) com *Chlorella vulgaris* em efluente doméstico filtrado – com iluminação de $42 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, temperatura média de 25°C , fotoperíodo de 14:10h claro:escuro – obteve as maiores taxas de crescimento de: $0,94 \pm 0,06 d^{-1}$ para 1% de CO₂; $1,24 \pm 0,03 d^{-1}$ para 5% de CO₂; $1,34 \pm 0,04 d^{-1}$ para 10% de CO₂; e $0,77 \pm 0,03$ para 20% de CO₂, quando o excesso de CO₂ começou a induzir a redução da taxa de crescimento. No caso deste estudo, o enriquecimento do ar com 5% de CO₂ no Experimento 2 obteve a maior taxa de crescimento no dia 4, com valor de $0,94 \pm 0,02 d^{-1}$ muito próximo ao obtido na literatura (Tabela 11), quando a taxa de remoção de fósforo total foi maior que 95%, culminando em um maior valor de densidade celular no final do experimento, conforme Figura 10. Para o Experimento 1 (Sem CO₂) a maior taxa

de crescimento ocorreu no dia 3, quando também houve a maior remoção diária de fósforo total, conforme se vê na Figura 12 e discute-se ao longo do item 5.1.4. As taxas de crescimento globais foram calculadas considerando o final do experimento, quando a remoção de P_{total} foi maior que 95% e os valores obtidos foram $0,36 \pm 0,01 \text{ d}^{-1}$ para o Experimento 1 (Sem CO_2), $0,59 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$ para o Experimento 2 (5% CO_2) e $0,53 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$ para o Experimento 3 (10% CO_2).

A mesma tendência observada na Figura 10 repete-se na Tabela 11, na qual o Experimento 2, com enriquecimento de 5% de CO_2 no ar comprimido, obtém os maiores valores, o que evidencia a importância do uso de gás carbônico para a comunidade mista utilizada neste estudo, tanto como fonte de carbono como para manter o pH mais próximo do neutro, entre 6,0 e 7,0.

As microalgas podem ser categorizadas de acordo com a sua tolerância ao CO_2 , assim: sensíveis ao CO_2 , quando toleram de 2 a 5% de CO_2 ; tolerantes ao CO_2 , quando inibidas por concentrações entre 5% e 20% de CO_2 ; e tolerantes a CO_2 extremos, quando suportam concentrações acima de 20% (MUSTAFA *et al.*, 2021).

Portanto, é importante destacar que o excesso de CO_2 pode reduzir as taxas de crescimento, a densidade celular, a produção de biomassa na forma de sólidos em suspensão totais (Figura 9) e as densidades ópticas (Figura 8), conforme observado na comparação entre os Experimentos 2 e 3, com 5% de CO_2 e 10% de CO_2 respectivamente.

5.1.4 **Remoção de Nutrientes e DQO**

O fornecimento de carbono na forma de CO_2 facilita a assimilação de nitrogênio e fósforo por parte das microalgas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021), sendo esta a principal razão para a variação da concentração de CO_2 realizada nesta etapa.

A adição de CO_2 também influencia no valor do pH, conforme já discutido no item 5.1.1, e principalmente na remoção do fósforo. Já os efeitos na remoção de nitrogênio e DQO são limitados, porém, ao aumentar a relação C:N, ocorre um impacto positivo na produção de biomassa (LI *et al.*, 2019), conforme discutido no item 5.1.2.

Na Tabela 12, estão apresentadas as concentrações diárias de nitrogênio total (N_{total}) e de fósforo total (P_{total}) em mg.L^{-1} para cada um dos experimentos da Etapa 1. É possível observar uma boa remoção de nutrientes pela cultura mista nativa em todos os experimentos. Não obstante, destaca-se que, no Experimento 2, com ar enriquecido com

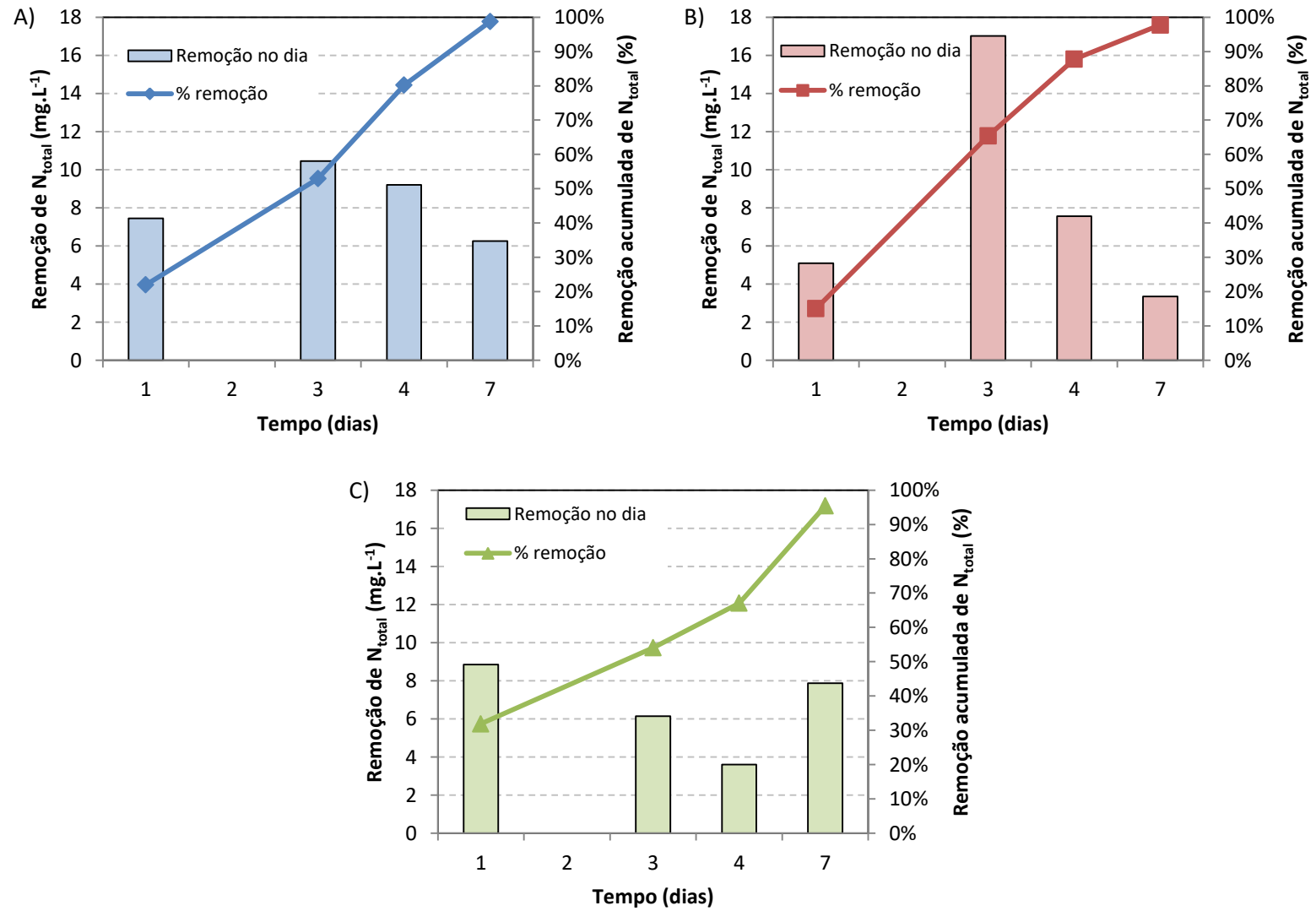
5% de CO₂, o valor de remoção de P_{total} superior a 95% foi atingido no quarto dia; enquanto nos Experimentos 1 e 3, sem adição de CO₂ e com 10% de CO₂ respectivamente, essa marca ocorreu no sétimo dia.

Tabela 12 – Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total (mg.L⁻¹) em solução para os experimentos da Etapa 1.

Tempo (d)		0	1	2	3	4	7
1	N _{total}	33,80±1,41	26,35±7,00	-	15,90±2,40	6,69±0,40	0,43±0,20
	P _{total}	3,52±0,01	2,52±0,47	-	1,23±0,04	0,50±0,01	0,08±0,02
2	N _{total}	33,80±1,13	28,70±2,69	-	11,69±4,26	4,13±1,48	0,77±0,55
	P _{total}	3,81±0,18	2,99±0,35	-	0,85±0,38	0,13±0,02	0,07±0,02
3	N _{total}	27,75±1,20	18,90±3,54	16,40±0,85	12,75±1,20	9,14±0,49	1,27±0,16
	P _{total}	2,95±0,19	1,91±0,25	1,87±0,05	0,60±0,16	0,16±0,02	0,06±0,01

Os valores diários de remoção do nitrogênio total, em mg.L⁻¹, e as porcentagens de remoção acumuladas para cada um dos três experimentos da Etapa 1 estão ilustrados assim: Figura 11 A), para o experimento 1, utilizando apenas ar comprimido; Figura 11 B), utilizando ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂; e Figura 11 C), utilizando ar comprimido enriquecido com 10% de CO₂.

Figura 11 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO_2 ; B) com 5% de CO_2 e C) com 10% de CO_2 .



Na Figura 11, as barras representam a remoção do N_{total} no dia, sendo, portanto, um valor dependente da medição realizada no dia anterior. Já a linha de remoção, referente ao eixo vertical secundário, representa o valor acumulado até o dia da medição. Os valores finais de remoção de nitrogênio total para os três experimentos apresentaram números muito próximos, com 98,7% para o Experimento 01 (Sem CO_2), 97,7% para o Experimento 02 (5% CO_2) e 95,4% para o Experimento 03 (10% CO_2).

Através da avaliação da Figura 11, é possível perceber que, embora todos os experimentos dessa etapa tenham obtido valores de remoção de nitrogênio total superior a 95% ao final da batelada experimental, isso aconteceu em tempos diferentes para cada um dos experimentos, ou seja, com diferentes taxas de remoção.

As taxas de remoção de nitrogênio (N_{total}) e fósforo (P_{total}) foram calculadas conforme Equação 3 (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016):

Equação 3 – Taxa de remoção de nutrientes ($\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)

$$R_i = \frac{S_0 - S_f}{t_f}$$

Onde:

R_i – corresponde à taxa de remoção do nutriente i (N_{total} ou P_{total});

S_0 – corresponde à concentração inicial do nutriente i ;

S_f – corresponde à concentração final do nutriente i , no tempo t_f ;

t_f – tempo em que a remoção de fósforo foi superior a 95%.

As taxas de remoção de N_{total} calculadas conforme Equação 3 foram $4,77 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o primeiro experimento (Sem CO_2), $7,42 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o segundo experimento (5% de CO_2) e $3,78 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o terceiro experimento (10% de CO_2).

As microalgas podem remover o nitrogênio de diferentes formas, tanto orgânicas – como é o caso dos aminoácidos, por exemplo – quanto inorgânicas – como NH_4^+ , NO_3 e NO_2 , com preferência pelo NH_4^+ por sua assimilação ser energeticamente mais eficiente (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

As taxas de remoção de nitrogênio podem ser associadas ao crescimento da cultura e também aos fenômenos abióticos, como é o caso da volatilização da amônia relacionado aos valores altos de pH resultantes da atividade fotossintética e da respiração das bactérias nitrificantes (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016). Embora o Experimento 3 (10%

CO₂) tenha apresentado uma taxa de crescimento global maior que o Experimento 1 (Sem CO₂) – conforme Tabela 11 –, bem como uma densidade celular maior – conforme Figura 10 –, apresentou uma taxa de remoção de N_{total} inferior à taxa do Experimento 1. A remoção de N_{total} no Experimento 1 pode ser resultado tanto dos fatores bióticos como dos abióticos e, dado que os valores de pH foram superiores ao longo de todo experimento (Figura 7), fenômenos como a volatilização da amônia podem ter influenciado positivamente na remoção de nitrogênio total.

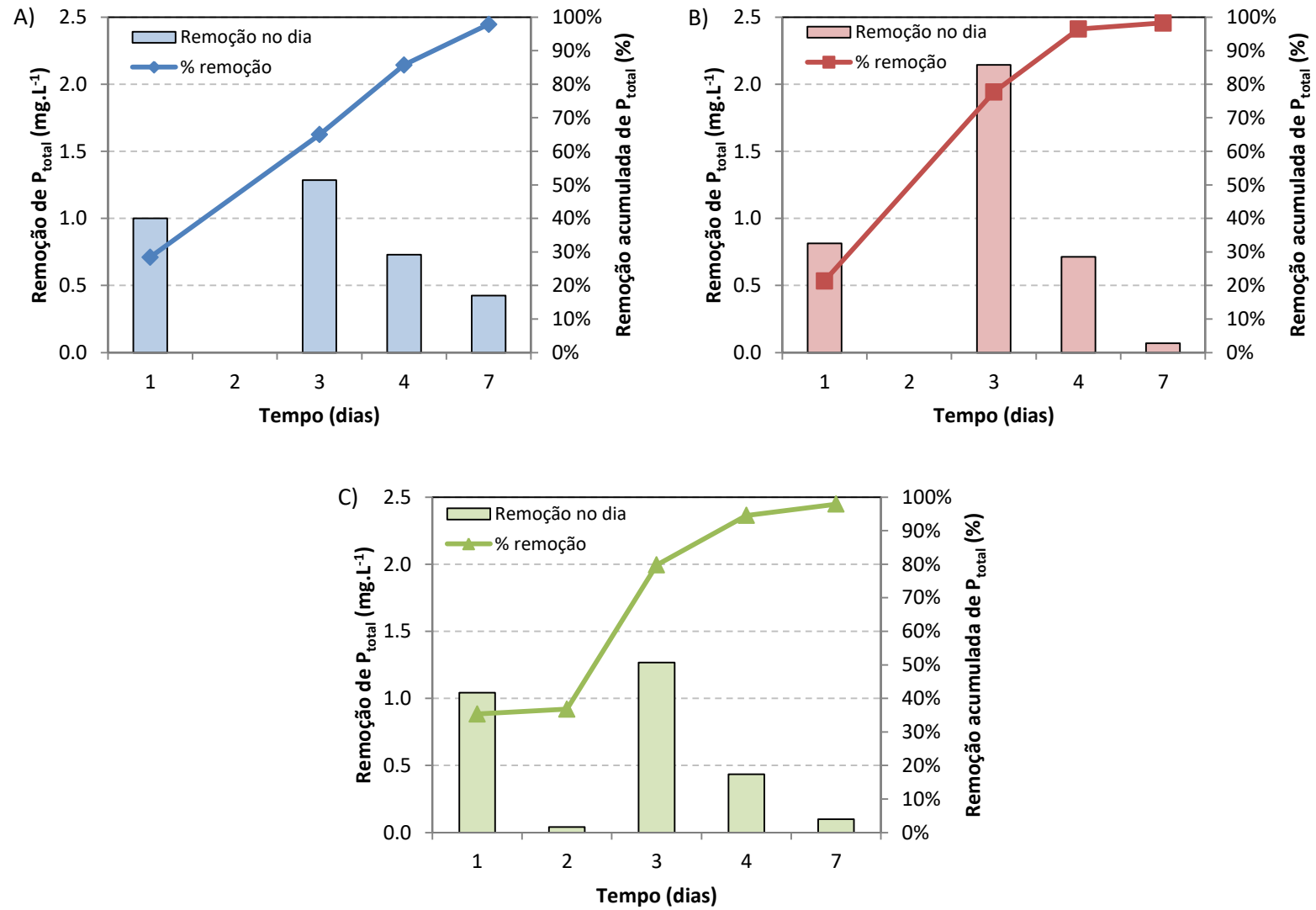
Na Tabela 13, estão apresentadas as taxas de remoção de N_{total}, NTK e NO₃ para cada um dos experimentos da Etapa 1, calculados conforme Equação 3, considerando o final do experimento quando a remoção de P_{total} atingiu 95%, sendo 7 dias para os Experimentos 1 (Sem CO₂) e 3 (10% CO₂) e 4 dias para o Experimento 2 (5% CO₂).

Tabela 13 – Taxas de remoção de N_{total}, NTK e NO₃ para os experimentos da Etapa 1.

Taxas de remoção (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)			
Experimento	N _{total}	NTK	NO ₃
1 (Sem CO ₂)	4,77	4,53	0,23
2 (5% CO ₂)	7,42	7,01	0,31
3 (10% CO ₂)	3,78	3,61	0,17

Os valores diários de remoção do fósforo total, em mg.L⁻¹ e as porcentagens de remoção acumuladas para cada um dos três experimentos da Etapa 1 estão ilustrados assim: Figura 12 A), para o Experimento 1, utilizando ar comprimido; Figura 12 B), utilizando ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂; e Figura 12 C), utilizando ar comprimido enriquecido com 10% de CO₂.

Figura 12 – Valores de remoção de fósforo total em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO₂; B) com 5% de CO₂ e C) com 10% de CO₂.



Para a remoção de fósforo total, os experimentos foram considerados concluídos no dia em que a remoção atingiu valor igual ou maior que 95%. Através das remoções acumuladas ilustradas na Figura 12, é possível perceber que o Experimento 02 (5% CO₂) atingiu esse valor no dia quatro, e os Experimentos 01 (Sem CO₂) e 03 (10% CO₂), no dia sete. Os valores máximos obtidos após sete dias para os Experimentos de 01 a 03 foram 97,8%, 98,3% e 97,9% respectivamente.

No estudo desenvolvido por Liu *et al.*, (2017c) com cultura pura de *Chlorella vulgaris*, o experimento com 10% de CO₂ apresentou a remoção de fósforo total mais rápida – como 3,5 dias, seguida por 5% de CO₂ – com 4,5 dias. Os autores destacam que, no experimento sem adição de CO₂, a remoção de fósforo apresentou o melhor valor em 4 dias, com tendência de aumento provavelmente devido à morte e à decomposição celular.

O pH também tem forte impacto na biodisponibilidade do fósforo, que pode precipitar em valores superiores a 9,0 (BELTRÁN-ROCHA *et al.*, 2017). Embora os valores de pH no Experimento 1 (Sem CO₂) tenham sido inferiores a 9,0, o fato de a batelada ter ocorrido em pH mais básico pode ter influenciado positivamente na remoção de fósforo. As taxas de remoção globais de P_{total} – calculadas conforme Equação 3, considerando o final do experimento quando a remoção atingiu o valor de 95% – para o primeiro experimento (Sem CO₂) foi de 0,49 mg.L⁻¹.d⁻¹; para o segundo experimento (5% CO₂), de 0,92 mg.L⁻¹.d⁻¹; e para o terceiro experimento (10% CO₂), de 0,41 mg.L⁻¹.d⁻¹.

As microalgas têm a capacidade de se adequar a diferentes relações N:P dos meios de cultivo, otimizando a absorção de nutrientes. Contudo alguns autores sugerem que existe uma relação ideal de N:P entre 6,8 e 10 para microalgas de água doce (MAYHEAD *et al.*, 2018). As relações N:P no início e no final dos experimentos, considerando a remoção de fósforo total igual ou superior a 95% para a Etapa 1, estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 – Relação N:P inicial e final para os experimentos da Etapa 1.

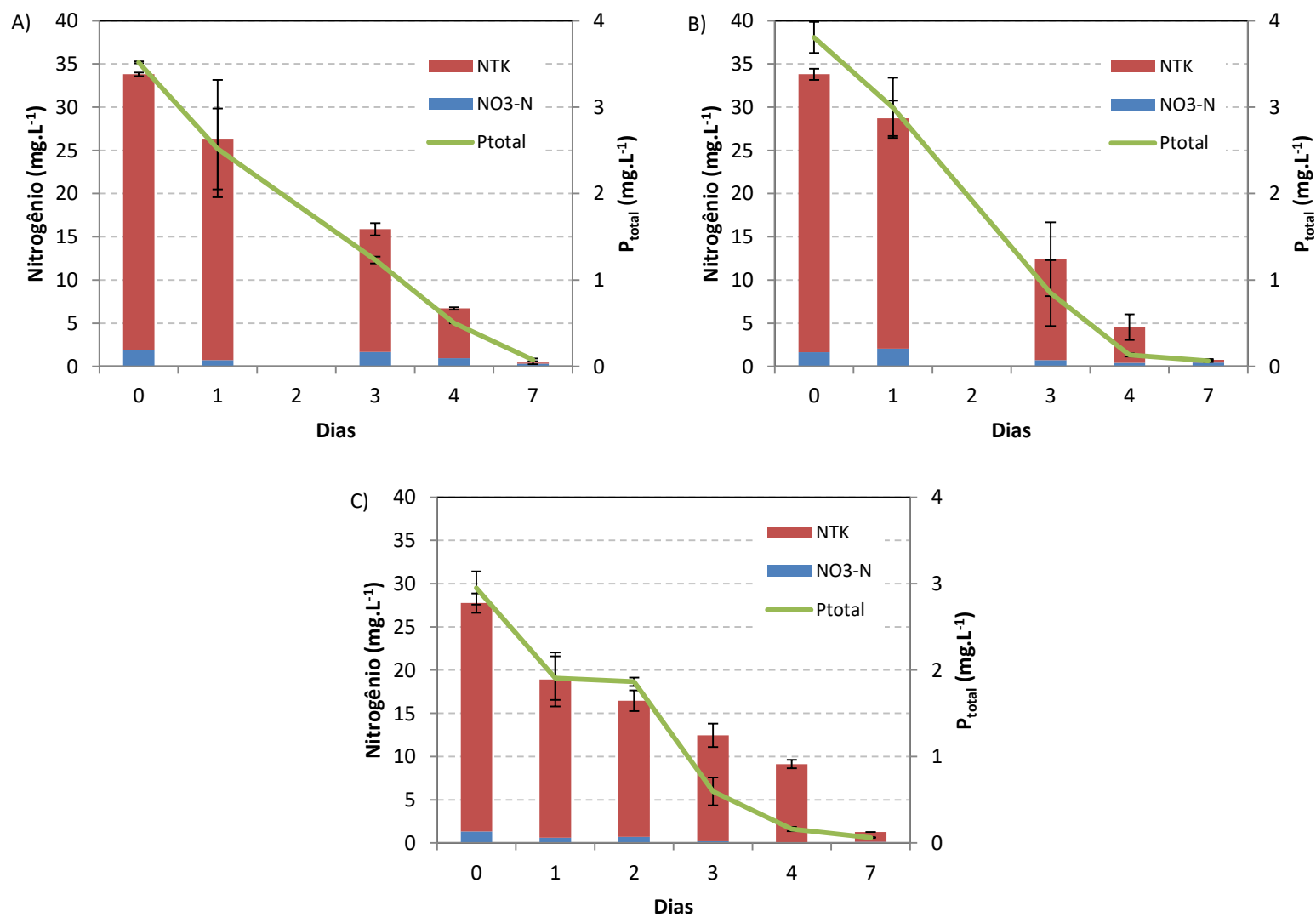
Experimento	Relação mássica $N_{total}:P_{total}$	
	Inicial	Final
1 (Sem CO ₂)	10:1	6:1
2 (5% CO ₂)	9:1	31:1
3 (10% CO ₂)	9:1	20:1

O estudo realizado por Su; Mennerich; Urban (2011) utilizando uma cultura mista nativa de microalgas e bactérias em fotobiorreator de escala laboratorial, com temperatura de 19°C, intensidade luminosa de 360 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ e duração da batelada de 8 dias, obteve aproximadamente 88% de remoção de NTK e 65% de remoção de fosfato, com uma baixa relação N:P, de 3:1. Já no estudo de Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016), a razão inicial de N:P foi de 17:1 e concluiu-se que a maior disponibilidade de nitrogênio pode favorecer a remoção do fósforo, porém destacou-se que outros fenômenos além da absorção de fósforo por microalgas podem impactar positivamente as taxas de remoção.

Segundo Von Sperling (1996) o nutriente limitante é aquele que limita o crescimento de uma determinada população e o crescimento algal em grandes lagos que apresente uma relação $N:P > 10$ será limitado pelo fósforo. Nos Experimentos 2 (5% de CO₂) e 3 (10% de CO₂), o fósforo foi o nutriente limitante, atingindo valores absolutos muito baixos, conforme Tabela 12, reforçados pelo aumento da relação N:P, explicitada na Tabela 14.

Os perfis de remoção da série de nitrogênio (NTK e nitrato) e do fósforo total (P_{total}) para os três experimentos da Etapa 1 estão ilustrados assim: Figura 13 A), para o Experimento 1, utilizando ar comprimido; Figura 13 B), utilizando ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂; e Figura 13 C), utilizando ar comprimido enriquecido com 10% de CO₂. Ao enriquecer o ar com 5% de CO₂, o perfil de remoção foi mais rápido, atingindo, porém, valores absolutos próximos aos índices sem CO₂ em quatro dias.

Figura 13 – Perfil de remoção de nutrientes em função do tempo para os experimentos da Etapa 1 A) sem CO₂; B) com 5% de CO₂ e C) com 10% de CO₂.



Embora os valores de remoção de fósforo total para os experimentos 1 (Sem CO₂) e 2 (5% CO₂) não apresentem diferença significativa ($p>0,05$), ao adicionarmos 5% de CO₂ na batelada, a remoção de fósforo foi superior a 95% em quatro dias, enquanto sem o enriquecimento de CO₂ foi de sete dias. Portanto, embora os valores finais obtidos sejam próximos, as taxas de remoção das bateladas são diferentes.

Na Tabela 15, estão apresentados os valores iniciais e finais da DQO dissolvida para os três experimentos. Como a análise foi realizada com a amostra filtrada, os valores apresentados referem-se à DQO dissolvida. A taxa de remoção foi calculada considerando o tempo de duração de cada um dos experimentos, sendo 7 dias para os Experimentos 1 (Sem CO₂) e 3 (10% CO₂) e 4 dias para o Experimento 2 (5% CO₂).

Tabela 15 – Valores iniciais e finais de DQO e a taxa de remoção diária para os experimentos da Etapa 1.

Experimento	DQO (mg.L ⁻¹)		Taxa de remoção de DQO (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)
	Inicial	Final	
1 (Sem CO ₂)	150,3±14,1	140,3±33,0	1,4
2 (5% de CO ₂)	222,0±106,1	168,7±16,5	13,3
3 (10% de CO ₂)	180,3±4,7	155,3±25,9	6,3

Os valores de concentração inicial e taxas de remoção para nitrogênio, fósforo e carbono obtidos nos experimentos da Etapa 1 foram comparados com alguns valores encontrados na literatura e com delineamentos experimentais semelhantes (Tabela 1) e estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Valores iniciais e porcentagens de remoção de nitrogênio, fósforo e carbono para os experimentos da Etapa 1 e referências da literatura.

Microrganismos	Nitrogênio		Fósforo		Carbono		Referência
	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	Ci (mg.L ⁻¹)	%R	
Consórcio de algas e bactérias nativas	91 NT	70	7 PO ₄ -P	85	181 COT	90	(POSADAS <i>et al.</i> , 2013)
<i>Chlorella vulgaris</i> e bactérias nativas de efluente doméstico primário	17-207 NH ₄ -N	30,9- 100	1,4-19,6 PT	65- 98	NA	NA	(HE <i>et al.</i> , 2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	104,51 NH ₄ -N	94,18	23,65 PO ₄ -P	97,69	NA	NA	(MAYHEAD <i>et al.</i> , 2018)
1 (Sem CO ₂)	34 NT	99	4 PT	98	150 DQO	7	Este trabalho
2 (5% CO ₂)	34 NT	98	4 PT	98	222 DQO	39	Este trabalho
3 (10% CO ₂)	28 NT	95	3 PT	98	180 DQO	14	Este trabalho

Abreviaturas: Ci – concentração inicial (mg.L⁻¹); %R – eficiência de remoção; NO₃-N – nitrato-nitrogênio (mgN.L⁻¹); NH₄-N – amônio-nitrogênio (mgN.L⁻¹); NT – nitrogênio total (mgN.L⁻¹); PO₄-P – fosfato-fósforo (mgP.L⁻¹); PT – fósforo total (mgP.L⁻¹); COT – carbono orgânico total (mgC.L⁻¹); DQO – demanda química de oxigênio (mgO₂.L⁻¹); NA. – não aplicável.

Fonte: Adaptado de (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017; MUSTAFA *et al.*, 2021)

No estudo realizado por Liu *et al.* (2017c) utilizando uma cultura pura de *Chlorella vulgaris* cultivada em esgoto filtrado para reduzir a interferência de microrganismos, os autores discutem a influência do pH na taxa de remoção de carbono. Segundo eles, a alta concentração de CO₂ pode aumentar a transferência de massa, porém a diminuição do valor de pH pode levar a um efeito inibidor no crescimento microalgal. Esse fator inibidor pode ser uma das causas do menor crescimento observado no experimento com 10% de CO₂ deste estudo.

No caso do estudo de Liu *et al.*, (2017c), a dosagem de 10% de CO₂ apresentou maior produção de biomassa e maior consumo de carbono, resultado não observado neste estudo, destacando a importância da realização de experimentos específicos para comunidades mistas, dados os impactos da simbiose entre algas e bactérias.

5.1.5 **Remoção de Metais Pesados**

O efluente anaeróbio usado neste trabalho foi estudado por Pipi *et al.* (2018) com objetivo de avaliar a presença e a concentração de metais e, também, a influência desses metais nos parâmetros físico-químicos da ETE. O referido estudo foi conduzido ao longo de dois meses. Os autores observaram que amostras pontuais apresentaram concentrações de alumínio, cobre e ferro acima do limite máximo permitido para corpos hídricos classe 2, portanto, estes metais foram os acompanhados neste estudo. Os padrões de qualidade para águas doces, classe 2 dos referidos metais, são: 0,1 mg.L⁻¹ de alumínio dissolvido; 0,009 mg.L⁻¹ de cobre dissolvido; e 0,3 mg.L⁻¹ de ferro dissolvido (CONAMA, 2005).

Para este estudo, os mesmos metais (Al, Cu e Fe) foram analisados e os valores iniciais e finais para os três experimentos da Etapa 1 estão apresentados na Tabela 17. A análise foi realizada com a amostra filtrada, buscando identificar a variação da concentração dos metais em solução, ou seja, simulando os valores de lançamento em corpos hídricos após o tratamento terciário com a comunidade mista nativa de microalgas e bactérias utilizada neste estudo.

Tabela 17 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 1.

Metais		Al (mg.L ⁻¹) (VMP 0,1mg.L ⁻¹)	Cu (mg.L ⁻¹) (VMP 0,009mg.L ⁻¹)	Fe (mg.L ⁻¹) (VMP 0,3mg.L ⁻¹)
Sem CO₂	t ₀	0,114±0,034	0,002±0,001	0,015±0,001
	t _f	0,097±0,007	0,002±0,001	ND
5% CO₂	t ₀	0,150±0,067	0,002±0,000	0,068±0,002
	t _f	0,081±0,010	0,002±0,001	ND
10% CO₂	t ₀	0,156±0,038	0,003±0,001	0,068±0,003
	t _f	0,144±0,033	0,003±0,001	ND

Abreviaturas: VMP – Valor Máximo Permitido (CONAMA, 2005); ND – não detectado;

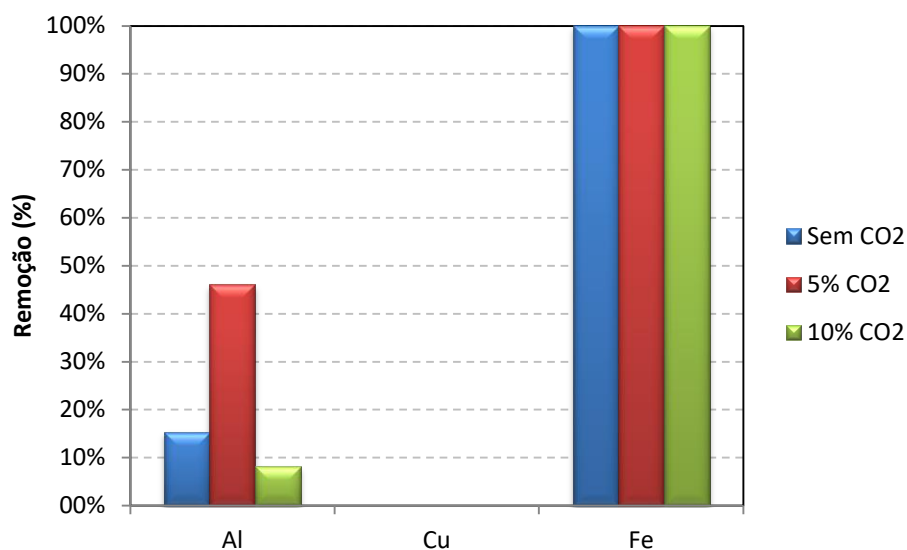
t₀ – tempo inicial; t_f – tempo final.

As concentrações de metais são alvo de especial atenção devido ao potencial toxicológico que pode comprometer tanto a saúde humana como o meio ambiente (BRIFFA; SINAGRA; BLUNDELL, 2020; PIPI *et al.*, 2018).

Segundo os autores, esses metais têm diferentes origens, como fertilizantes ou esgotos oriundos de fábricas, mas também são associados a outros fatores, como lixiviação de solo, descartes irregulares e influência nas concentrações dos metais em dias pós-chuvas (PIPI *et al.*, 2018).

Os valores de porcentagem de remoção dos metais obtidos em cada um dos experimentos da Etapa 1 estão apresentados na Figura 14.

Figura 14 – Valores de porcentagem de remoção de Al, Cu e Fe para os experimentos da Etapa 1.



A remoção dos metais é afetada pelo aumento do pH (BALINTOVA; PETRILAKOVA, 2011), sendo o pH final para o Experimento 1 (Sem CO₂) $8,31 \pm 0,05$, para o Experimento 2 (5% CO₂) $6,28 \pm 0,04$ e para o Experimento 3 (10% CO₂) $5,92 \pm 0,06$. Nos experimentos da Etapa 1, a remoção total de ferro pode estar associada à precipitação (BALINTOVA; PETRILAKOVA, 2011). A precipitação do alumínio está associada a valores de pH maiores que 6,0, o que pode ter contribuído para a baixa remoção de alumínio no Experimento 03 (10% CO₂). Já a maior remoção do alumínio foi observada no Experimento 02, que, além de apresentar um valor de pH superior a 6, também apresentou o maior valor de sólidos em suspensão totais. Todavia seria necessária a realização do balanço de massa com a detecção desse metal na biomassa para comprovação dessa hipótese, sendo esta uma das contribuições para futuras pesquisas resultantes deste estudo.

Embora os experimentos não tenham apresentado remoção de cobre, a concentração está abaixo do valor máximo permitido, de $0,009 \text{ mg.L}^{-1}$. Já no caso do Experimento 03 (10% CO₂), o valor final do alumínio ainda está acima do valor máximo permitido para águas doces de classe 2 (CONAMA, 2005).

5.1.6 **Considerações Etapa 1**

Considerando os resultados apresentados para a Etapa 1, o Experimento 2, realizado com enriquecimento de 5% de CO₂, obteve as maiores porcentagens de remoção de nutrientes e o melhor perfil de crescimento, atendendo aos objetivos deste trabalho.

É importante destacar a influência do pH no comportamento das culturas mistas de microalgas e bactérias, afetando as taxas de crescimento, produção de biomassa e remoção de nutrientes. Portanto, é possível afirmar que se trata de um parâmetro fundamental de acompanhamento para controle e otimização de fotobiorreatores (LIU *et al.*, 2017c).

No estudo desenvolvido por Liu *et al.* (2017c), os experimentos com 5% e 10% de CO₂ mantiveram os valores de pH na faixa de 6,5 a 9,0, o que pareceu ser a faixa ideal de crescimento de *C. vulgaris*, considerando o crescimento da biomassa.

Neste estudo, o enriquecimento com 5% de CO₂ manteve o pH na faixa entre 6,0 e 7,0 e apresentou o maior crescimento de biomassa, considerando sólidos em suspensão totais. Conforme discutido no item 5.1.2, o excesso de CO₂ pode induzir a uma redução na produção de biomassa na cultura mista nativa de microalgas e bactérias utilizada neste estudo, como observado no experimento com 10% de CO₂.

A análise dos valores de densidade óptica nos comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm, conforme discutido no item 5.1.2, também mostra que o experimento com 5% de CO₂ obteve o melhor desempenho na etapa, apresentando os maiores valores a partir do terceiro dia, conforme Figura 8.

A maior concentração de clorofila *a* também foi obtida no Experimento 2 (5% CO₂), em consonância com o previsto por Kaya *et al.* (1996), que afirmou que concentrações de CO₂ maiores que a atmosférica conduzem ao aumento da clorofila *a*.

As maiores taxas de remoção de nutrientes ocorreram no Experimento 2 (5% CO₂), sendo 7,42 mg.L⁻¹.d⁻¹ para nitrogênio total e 0,92 mg.L⁻¹.d⁻¹ para fósforo total. A remoção de DQO em solução também foi maior no Experimento 2 (5% CO₂) com 13,3 mg.L⁻¹.d⁻¹, conforme discutido no item 5.1.4.

Para o caso da remoção de metais, o pH também é um fator de significativa influência, sendo associado à remoção do ferro na Etapa 1 devido à precipitação e também à baixa remoção de alumínio no Experimento 03 (10% CO₂) (BALINTOVA; PETRILAKOVA, 2011), conforme discutido no item 5.1.5.

Os principais parâmetros obtidos na Etapa 1 estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Principais parâmetros obtidos para os três experimentos da Etapa 1.

ETAPA 1			
Parâmetro	Experimento 1 (Sem CO₂)	Experimento 2 (5% CO₂)	Experimento 3 (10% CO₂)
pH (dia 7)	8,11±0,05	6,28±0,04	5,92±0,06
Densidade óptica - 680 nm (dia 7)	0,61±0,11	1,65±0,02	1,32±0,03
Densidade óptica - 750 nm (dia 7)	0,48±0,08	1,09±0,01	0,93±0,01
Taxa de produção de SST (g.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,02	0,07	0,01
Taxa de crescimento global (d ⁻¹) *	0,36±0,01	0,59±0,06	0,53±0,06
Taxa de remoção de N _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	4,77	7,42	3,78
Taxa de remoção de P _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,49	0,92	0,41
N:P *	6:1	31:1	20:1

Legenda: * considerando o final do experimento quando a remoção de P_{total} atingiu 95%.

Embora o acréscimo de CO₂ possa representar um custo operacional adicional, é importante considerar sua ajuda no controle do pH, que sofre influência da temperatura e da fotossíntese. E a variação do pH impacta significativamente a remoção de nutrientes, além de aumentar a relação C:N, podendo levar a um crescimento na produtividade da biomassa (LI *et al.*, 2019).

Por essas razões, o Experimento 2, com ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂, foi a condição escolhida para as próximas etapas, situação em consonância com os estudos desenvolvidos por Liu *et al.* (2017b) e Ryu; Oh; Kim (2009). As próximas etapas ocorreram com inserção de ar enriquecido com 5% de CO₂.

5.2 Etapa 2: Avaliação da Variação da Intensidade Luminosa

Esta etapa experimental foi realizada em triplicata biológica, em duas condições de intensidade luminosa diferentes, além de $154 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ já mencionada no item 5.1. Na primeira condição da Etapa 2, Experimento 4, chamado de LED-média, acrescentamos duas fitas de LED com 5m cada, obtendo uma intensidade luminosa média de $211 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ cuja duração da batelada foi de três dias, quando a remoção de fósforo total foi maior que 95%.

Para realização do Experimento 5, chamado LED-alta, segunda condição da Etapa 2, mais duas fitas de LED foram acrescentadas, totalizando quatro fitas, que resultaram em uma intensidade luminosa média de $304 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e a duração da batelada foi de dois dias, quando o valor da remoção de fósforo total foi superior a 95%. Em ambos os casos, os experimentos foram acompanhados por sete dias para um volume maior de dados, possibilitando uma melhor análise de tendências. Na Tabela 19, estão apresentadas as características dos experimentos realizados na Etapa 2 e a melhor condição obtida na Etapa 1.

Tabela 19 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 2.

Parâmetros	Etapa 1		Etapa 2	
	Experimento 2 (5% CO ₂)	Experimento 4 (LED-média)	Experimento 5 (LED-alta)	
Enriquecimento com CO ₂	5%	5%	5%	
Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	154 ± 2	211 ± 3	304 ± 3	
Temperatura (°C)	26 ± 3	25 ± 5	26 ± 8	
pH	$7,08 \pm 0,05$	$7,75 \pm 0,03$	$6,91 \pm 0,05$	
Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$)	$100,8 \pm 3,0$	$117,3 \pm 1,6$	$116,5 \pm 1,7$	
P _{total} (mg.L^{-1})	$3,81 \pm 0,18$	$4,62 \pm 0,12$	$4,96 \pm 0,37$	
N _{total} (mg.L^{-1})	$33,80 \pm 1,13$	$34,73 \pm 0,91$	$36,10 \pm 1,76$	
DQO (mg.L^{-1})	$222,00 \pm 106,07$	$175,89 \pm 18,95$	$159,22 \pm 18,95$	
SST (g.L^{-1})	$0,08 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,01$	

Os parâmetros expostos na Tabela 19 não apresentaram variação significativa ($p>0,05$) entre os experimentos. A DBO, como ocorreu na Etapa 1, também foi o parâmetro que apresentou maior diferença entre os experimentos, porém pequenas diferenças eram esperadas por usar efluente real oriundo de uma estação de tratamento de esgoto.

O objetivo desta etapa foi avaliar o impacto do aumento da intensidade luminosa na remoção de nutrientes e de metais em solução, além da produção de biomassa da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias.

A intensidade luminosa tem papel fundamental no equilíbrio das comunidades mistas, promovendo um ambiente onde o crescimento das microalgas seja superior ao das bactérias, principalmente quando os nutrientes se tornam escassos e a competição entre espécies aumenta (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Existe um ponto de saturação da intensidade luminosa, que varia com a temperatura e para cada espécie de microalga, abaixo do qual a taxa de atividade fotossintética é proporcional à intensidade luminosa; ao passo que, quando a intensidade luminosa está acima dele, pode ocorrer fotoinibição (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

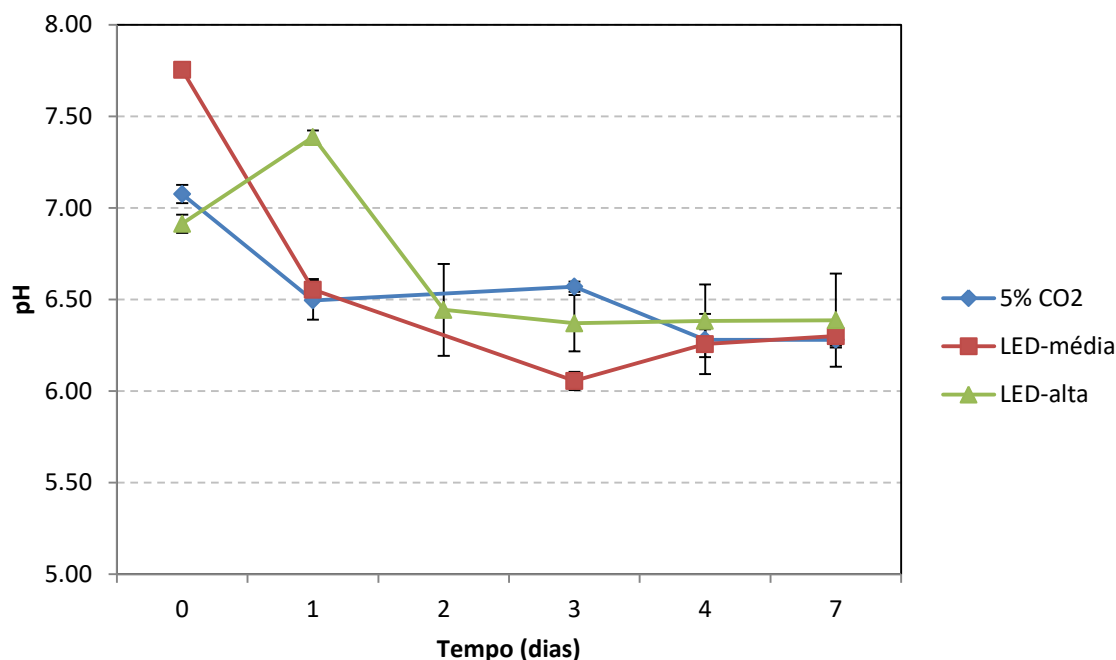
O aumento da intensidade luminosa tende a aumentar as taxas de crescimento e remoção, portanto o experimento com quatro fitas de LED (LED-alta) foi analisado buscando um perfil diário de crescimento e remoção de nutrientes.

Os resultados de pH, alcalinidade, densidade óptica, sólidos em suspensão, clorofila *a*, densidade celular, remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e remoção de metais – obtidos durante a Etapa 2 e comparados com a melhor condição obtida na Etapa 1 (5% CO₂) – são discutidos nos itens de 5.2.1 a 5.2.5.

5.2.1 pH e Alcalinidade

Na Figura 15, estão apresentados os dados de pH da melhor situação da Etapa 1 (5% CO₂) – cujos resultados foram discutidos ao longo do item 5.1 – juntamente com os dois experimentos realizado na Etapa 2: o Experimento 4, realizado com o acréscimo de duas fitas de LED (LED-média); e o Experimento 5, realizado com acréscimo de outras duas fitas de LED (LED-alta).

Figura 15 – Variação dos valores de pH em função do tempo para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.



O aumento da intensidade luminosa está associado ao aumento da atividade fotossintética. Portanto, durante os períodos de luz, há um maior consumo de HCO_3^- , que resulta no aumento do valor do pH do meio (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018), como podemos observar no dia 1 do Experimento 05 (LED-alta). Entretanto, com a escassez dos nutrientes do meio, a atividade fotossintética também diminui ao longo dos outros dias do experimento, por isso, os valores de pH ficaram abaixo de 6,5. O Experimento 4 (LED-média), por apresentar menor intensidade luminosa, atingiu valores de pH inferiores ao Experimento 5 (LED-alta), conforme esperado.

O enriquecimento do ar comprimido com 5% de CO_2 foi suficiente para que os valores de pH se mantivessem na faixa entre 6,0 e 7,5, próximos aos obtidos no Experimento 2 da Etapa 1 (5% CO_2), mesmo com o aumento da intensidade luminosa. A manutenção dos valores de pH é um fator importante para uma cultura mista, pois, em meios onde o pH é muito alcalino, as taxas de crescimento e funções das bactérias anaeróbias e facultativas podem ser prejudicadas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021), surgindo a possibilidade de influenciar negativamente as taxas de remoção de nitrogênio.

Os valores de alcalinidade inicial e final estão apresentados na Tabela 20:

Tabela 20 – Valores de alcalinidade inicial e final para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.

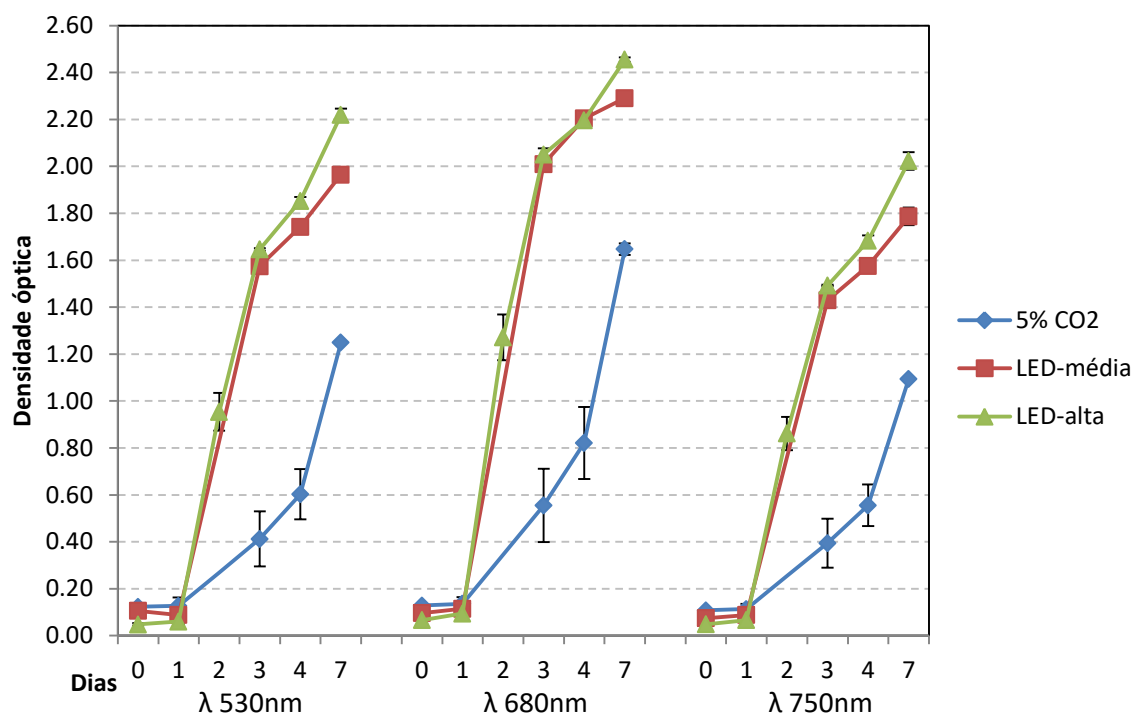
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		
Experimento	Inicial	Final
Etapa 1:		
2 (5% CO ₂)	100,8±3,0	57,8±4,5
Etapa 2:		
4 (LED-média)	117,3±1,6	50,5±1,2
5 (LED-alta)	116,5±1,7	56,1±1,5

Como houve suplementação de 5% de CO₂ nos experimentos da Etapa 2, observamos um comportamento semelhante entre as Etapas 1 e 2, o que indica que a variação da intensidade luminosa não produziu alterações significativas no consumo de alcalinidade, conforme esperado, pois a alcalinidade está associada ao consumo de carbono inorgânico pelas microalgas (SLOMPO *et al.*, 2020), conforme discutido no item 5.1.1.

5.2.2 ***Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)***

O aumento da intensidade luminosa impactou a variação da densidade óptica em 530 nm, 680 nm e 750 nm, conforme valores apresentados na Figura 16. No sétimo dia, no comprimento de onda de 750 nm, que é usado como indicador indireto de produção de biomassa, ocorreu um aumento de 63% para o Experimento 04 (LED-média) e de 85% para o Experimento 05 (LED-alta) em relação à densidade óptica de 5% de CO₂, Experimento 02, melhor condição da Etapa 01.

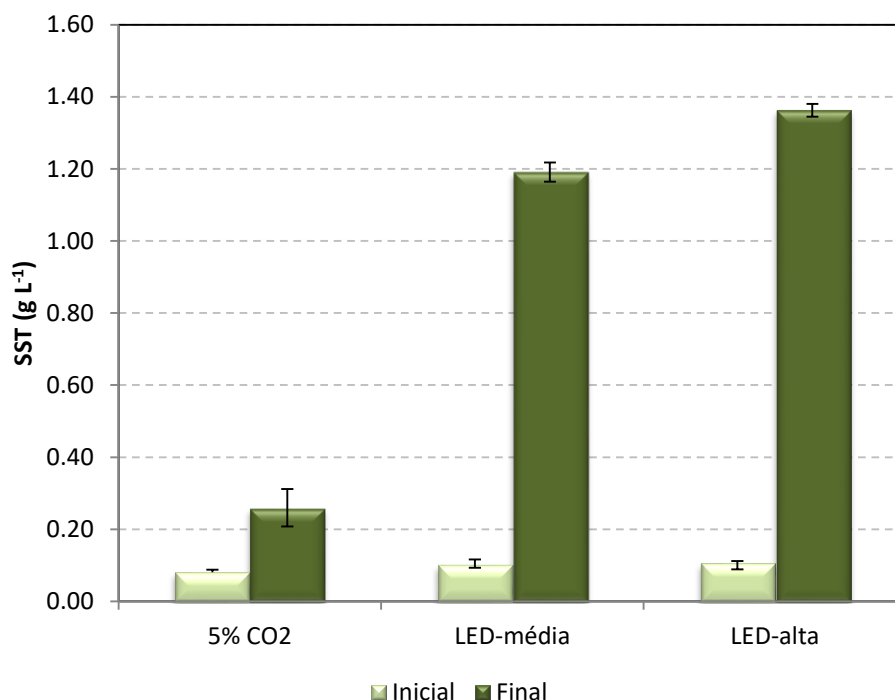
Figura 16 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530, 680 e 750nm em função do tempo para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.



Alguns autores avaliam a densidade óptica em 680 nm como um indicador indireto da densidade celular (CABANELAS *et al.*, 2013; CHO *et al.*, 2017; PENG *et al.*, 2014). Na Figura 16, é possível observar um comportamento similar ao encontrado para a densidade óptica em 750 nm.

O aumento de biomassa produzida, conforme previsto através do indicador indireto da densidade óptica, foi confirmado através da análise de sólidos em suspensão totais, apresentados na Figura 17, com um aumento da ordem de 300% do Experimento 04 (LED-média) em relação ao Experimento 2 (5% CO₂) e cerca de 400% do Experimento 05 (LED-alta) em relação ao Experimento 2 (5% CO₂).

Figura 17 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final de cada experimento para Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.



Vários autores associam o aumento da produção de biomassa ao aumento da intensidade luminosa, até um determinado limite (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016; LEE; LEI, 2019a; LI *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2019), mesmo comportamento observado na cultura mista estudada, conforme Figuras 16 e 17.

Os valores da taxa de produtividade calculados conforme Equação 1 foram de 0,07 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 02 (5% de CO₂), melhor situação da Etapa 1, 0,22 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 04 (LED-média) e 0,30 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 05 (LED-alta). Observa-se, portanto, um aumento de 232% e 363% para os experimentos de LED-média e LED-alta, respectivamente, em relação à taxa calculada para de 5% de CO₂, confirmando o crescimento da produção de biomassa com o aumento da intensidade luminosa para a cultura mista nativa deste estudo.

O estudo realizado por Li *et al.* (2012) avaliou o impacto das variações de intensidade luminosa na acumulação de biomassa e remoção de nutrientes para as espécies *Chlorella kessleri* e *Chlorella protothecoide*. Para avaliar o impacto na biomassa da intensidade luminosa, os autores utilizaram a Equação 4, em que é calculada a eficiência de conversão da intensidade luminosa em biomassa produzida.

Equação 4 – Cálculo da eficiência de conversão de intensidade luminosa em biomassa

$$\text{Eficiência de conversão} = \frac{\text{Concentração de biomassa}}{\text{Intensidade luminosa}}$$

Onde:

Concentração de biomassa (g.L^{-1}) - maior concentração acumulada de biomassa obtida durante o experimento.

Intensidade da luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) - a intensidade da luz aplicada durante o experimento.

Os autores concluíram que a eficiência de conversão de eletricidade para ambas as espécies diminuía à medida que a intensidade luminosa aumentava. Portanto, sob o foco da economia de eletricidade, baixas intensidades luminosas devem ser aplicadas, conforme comparação com os experimentos realizados neste estudo e demonstrados na Tabela 21:

Tabela 21 – Valores de eficiência de conversão de intensidade luminosa em biomassa para os experimentos da Etapa 2 e a melhor situação da Etapa 1.

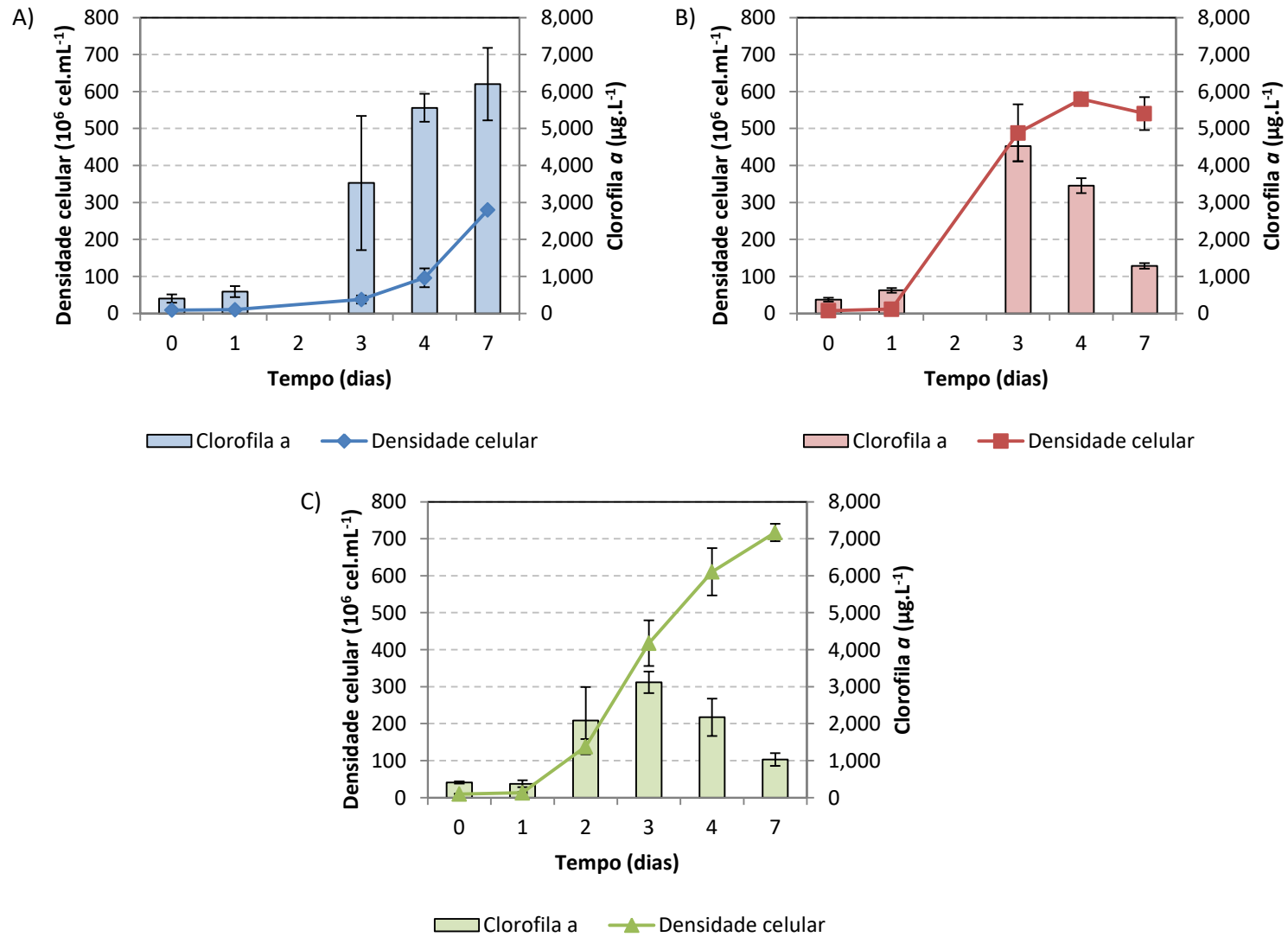
Experimento	Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Eficiência de conversão ($\text{g.L}^{-1}/\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Referência
<i>C. kessleri</i>	30	0,0357	(LI <i>et al.</i> , 2012)
	60	0,0208	
	120	0,0117	
	200	0,0066	
<i>C. protothecoide</i>	30	0,0263	(LI <i>et al.</i> , 2012)
	60	0,0146	
	120	0,0071	
	200	0,0053	
2 (5% CO ₂)	154	0,0035	Este trabalho
4 (LED-média)	211	0,0077	Este trabalho
5 (LED-alta)	304	0,0073	Este trabalho

No caso deste trabalho, o aumento da intensidade luminosa resultou em uma maior eficiência de conversão para o caso do Experimento 4 (LED-média), porém, para o caso do Experimento 5 (LED-alta), houve uma redução na eficiência de conversão, comportamento semelhante ao observado no estudo de Li *et al.* (2012).

5.2.3 *Densidade celular, clorofila *a* e cálculo da taxa de crescimento*

Os valores da densidade celular e clorofila *a* para os dois experimentos da Etapa 2 e a melhor situação da Etapa 1 (5% CO₂) estão apresentados na Figura 18.

Figura 18 – Densidade celular e clorofila *a* em função do tempo para a melhor situação da Etapa 1 A) 5% CO₂; e experimentos da Etapa 2 B) LED-média e C) LED-alta.



Analisando a Figura 18, é possível perceber que, a partir do terceiro dia de cultivo, a clorofila *a* começa a decrescer nos Experimentos 4 (LED-média) e 5 (LED-alta). Os valores máximos obtidos foram $4526 \pm 415 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Experimento 4 (LED-média) e $3119 \pm 294 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Experimento 5 (LED-alta), enquanto o valor máximo obtido para a melhor condição da Etapa 1 (5% CO₂) foi de $6201 \pm 983 \mu\text{g.L}^{-1}$, no sétimo dia de cultivo.

Um fator que afeta a concentração de clorofila *a* nas células das microalgas é a relação entre intensidade luminosa e temperatura. Para equilibrar a quantidade de luz que pode ser absorvida para fixação do carbono em baixas temperaturas, as microalgas reduzem a quantidade de clorofila nas células comparadas com a mesma intensidade luminosa em temperaturas mais altas (MOHSENPOUR *et al.*, 2021). Esse mesmo comportamento é observado na Figura 18, em que o aumento da intensidade luminosa levou a uma redução na quantidade de clorofila *a* dos experimentos da Etapa 2 (LED-média e LED-alta).

O cultivo de microalgas em baixas temperaturas deve ser realizado também com intensidades luminosas menores para minimizar a fotoinibição, além de outras vantagens de temperaturas mais baixas, como maior solubilidade do oxigênio e minimização das taxas de crescimento dos microrganismos concorrentes (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Nos experimentos da Etapa 2, a quantidade de nutrientes disponíveis a partir do terceiro dia estava bastante reduzida, influenciando tanto a quantidade de clorofila *a* como a densidade celular, cujos valores de N_{total} para os Experimentos 02 (5% de CO₂), 04 (LED-média) e 05 (LED-alta) foram $11,69 \text{ mg.L}^{-1}$; $1,43 \text{ mg.L}^{-1}$ e $2,40 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente e de P_{total} foram $0,85 \text{ mg.L}^{-1}$; $0,12 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,14 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente. As discussões sobre remoção de nutrientes são feitas no item 5.2.4.

As taxas de crescimento calculadas conforme Equação 2 estão demonstradas na Tabela 22:

Tabela 22 – Taxas de crescimento μ (d^{-1}) por dia para os experimentos da Etapa 2 e para melhor condição da Etapa 1.

μ (d^{-1})			
	Etapa 1	Etapa 2	
Tempo (dias)	2 5% CO₂	4 LED-média	5 LED-alta
1	0,12±0,03	0,41±0,19	0,28±0,20
2	-	-	2,35±0,24
3	0,66±0,12	1,87±0,04	1,11±0,08
4	0,94±0,02	0,18±0,17	0,38±0,05
7	0,36±0,09	-0,02±0,02	0,05±0,03

Os maiores valores da taxa de crescimento foram obtidos no dia 3 para o Experimento 4 (LED-média) e no dia 2 para o Experimento 5 (LED-alta). Esses valores de crescimento estão alinhados com os maiores valores de remoção de fósforo total para esses experimentos, conforme Figura 20, em que a remoção atingiu valores superiores a 95%.

Compararam-se as taxas de crescimento obtidas neste estudo com os valores obtidos por Li *et al.* (2012) em seu estudo sobre o efeito da intensidade da luz no acúmulo de biomassa e na remoção de nutrientes para culturas puras, no qual, para a espécie *C. kessleri*, o crescimento da biomassa aumentou com o aumento da intensidade luminosa até o valor de $120 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A partir de então, houve uma redução no crescimento da cultura provavelmente devido à fotoinibição. Para a espécie *C. protothecoide*, a taxa de crescimento aumentou com a intensidade luminosa até $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; já para intensidades luminosas entre 30 e $120 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, a taxa de crescimento variou de forma discreta, voltando a crescer com o aumento da intensidade luminosa até $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Neste estudo, o aumento da intensidade luminosa também promoveu o aumento da taxa de crescimento, com taxas globais calculadas de $1,38 \pm 0,08 d^{-1}$ para o Experimento 4 (LED-média) e $1,32 \pm 0,05 d^{-1}$ para o Experimento 5 (LED-alta), sendo que o maior valor obtido na Etapa 1 (5% CO₂) foi de $0,59 \pm 0,06 d^{-1}$, considerando o final da batelada como o dia em que a remoção de fósforo total foi superior a 95%.

No caso do estudo de Li *et al.* (2012), o uso de intensidades luminosas menores resultou em uma maior eficiência de conversão, conforme Tabela 21, porém com menor

taxa de crescimento específico e menor produtividade de biomassa. Já no caso da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias usada neste estudo, a melhor eficiência de conversão de intensidade luminosa foi obtida no experimento 4 (LED-média), conforme discutido no item 5.2.2, bem como a maior taxa de crescimento global e maior produção de biomassa (Figura 17).

5.2.4 **Remoção de Nutrientes e DQO**

Segundo Mohsenpour *et al.* (2021), além da intensidade luminosa, a quantidade de carbono disponível, em particular o carbono inorgânico, é fator importante que pode limitar o crescimento microalgal e reduzir a remoção de nitrogênio e fósforo por assimilação.

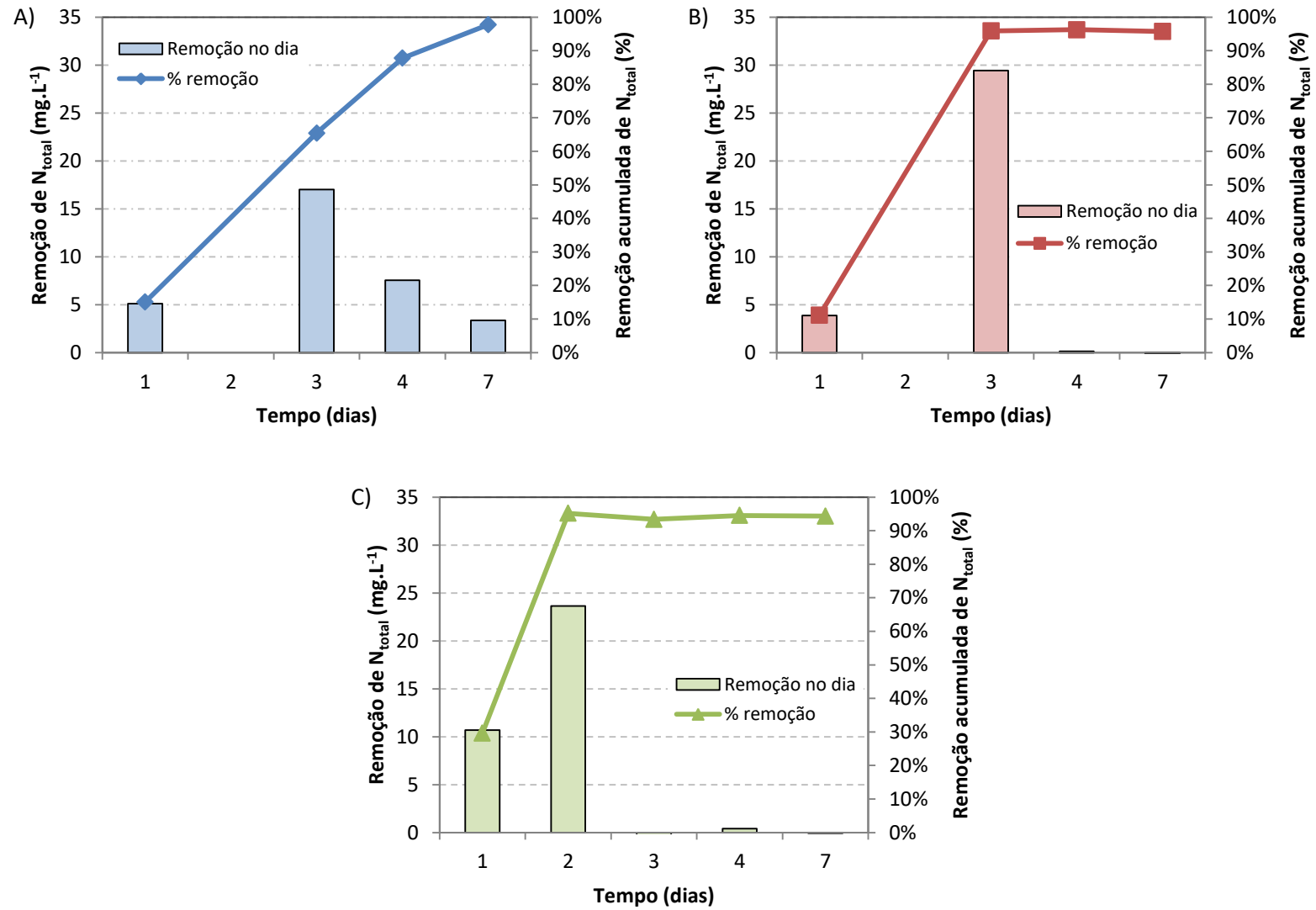
Na Tabela 23, estão apresentadas as concentrações diárias de nitrogênio total (N_{total}) e de fósforo total (P_{total}) em $mg.L^{-1}$ para os dois experimentos da Etapa 2 e para a melhor situação da Etapa 1. Os experimentos da Etapa 2, que também receberam ar enriquecido com 5% de CO_2 , apresentaram concentrações de nitrogênio e fósforo bastante reduzidas a partir do segundo dia de experimento, atingindo o valor de remoção de P_{total} superior a 95% no terceiro dia, para o Experimento 4 (LED-média), e no segundo dia, para o Experimento 5 (LED-alta).

Tabela 23 – Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total ($mg.L^{-1}$) em solução dos experimentos da Etapa 2 e da melhor situação da Etapa 1.

Tempo (d)		0	1	2	3	4	7
Etapa 1							
5% CO_2	N_{total}	33,80±1,13	28,70±2,69		11,69±4,26	4,13±1,48	0,77±0,55
	P_{total}	3,81±0,18	2,99±0,35		0,85±0,38	0,13±0,02	0,07±0,02
Etapa 2:							
LED- média	N_{total}	34,73±0,91	30,87±4,85		1,43±0,05	1,31±0,09	1,49±0,11
	P_{total}	4,62±0,12	2,73±0,13		0,12±0,01	0,09±0,01	0,05±0,01
LED- alta	N_{total}	36,10±1,76	25,40±2,67	1,75±0,29	2,40±0,32	1,97±0,05	2,04±0,26
	P_{total}	4,96±0,37	3,01±0,33	0,14±0,02	0,14±0,04	0,10±0,01	0,07±0,02

Os valores diários de remoção do nitrogênio total, em mg.L^{-1} , e as porcentagens de remoção acumuladas para os dois experimentos da Etapa 2, bem como a melhor situação da Etapa 1, estão ilustrados assim: Figura 19 A), para o Experimento 2 utilizando apenas ar comprimido enriquecido com 5% de CO_2 (melhor situação da Etapa 1); Figura 19 B), para o Experimento 04 utilizando $211 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (LED-média); e Figura 19 C) para o Experimento 05 utilizando $304 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (LED-alta).

Figura 19 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para A) com 5% de CO₂ – Etapa 1; B) LED-média e C) LED-alta –Etapa 2.



Os valores de remoção de nitrogênio total, obtidos no dia 7 para os três experimentos apresentados na Figura 19, foram de 97,7% para o Experimento 02 (5% CO₂); 95,7% para o Experimento 4 (LED-média); e 94,3% para o Experimento 05 (LED-alta). Não obstante, os valores máximos de remoção de nitrogênio total para a Etapa 2 foram obtidos no mesmo dia em que a remoção de fósforo total atingiu valores superiores a 95% para os dois experimentos, sendo 96,2% para o Experimento 04 (LED-média), no dia 3, e 95,9% para o Experimento 05 (LED-alta), no dia 2. Essa variação nas taxas de remoção de nitrogênio total pode ser explicada por dois fenômenos: o aumento das taxas de crescimento e a fotoinibição (LEE; LEI, 2019b).

O primeiro ponto é que o aumento da intensidade luminosa aumenta as taxas de remoção de nutrientes e, conforme valores apresentados na Tabela 23, as concentrações de nitrogênio e fósforo em solução após o terceiro dia de batelada na Etapa 2 são muito baixas, o que provavelmente levou ao stress da cultura, como também observou-se na redução da densidade celular, clorofila *a* e taxas de crescimento, discutidos no item 5.2.3.

Outro ponto importante da influência da intensidade luminosa na remoção de nitrogênio é a fotoinibição, que pode impactar na competição entre algas e bactérias e até inibir a atividade de bactérias oxidantes de nitrito, as quais se acumulariam no reator para intensidade luminosa superior a 180 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (LEE; LEI, 2019b).

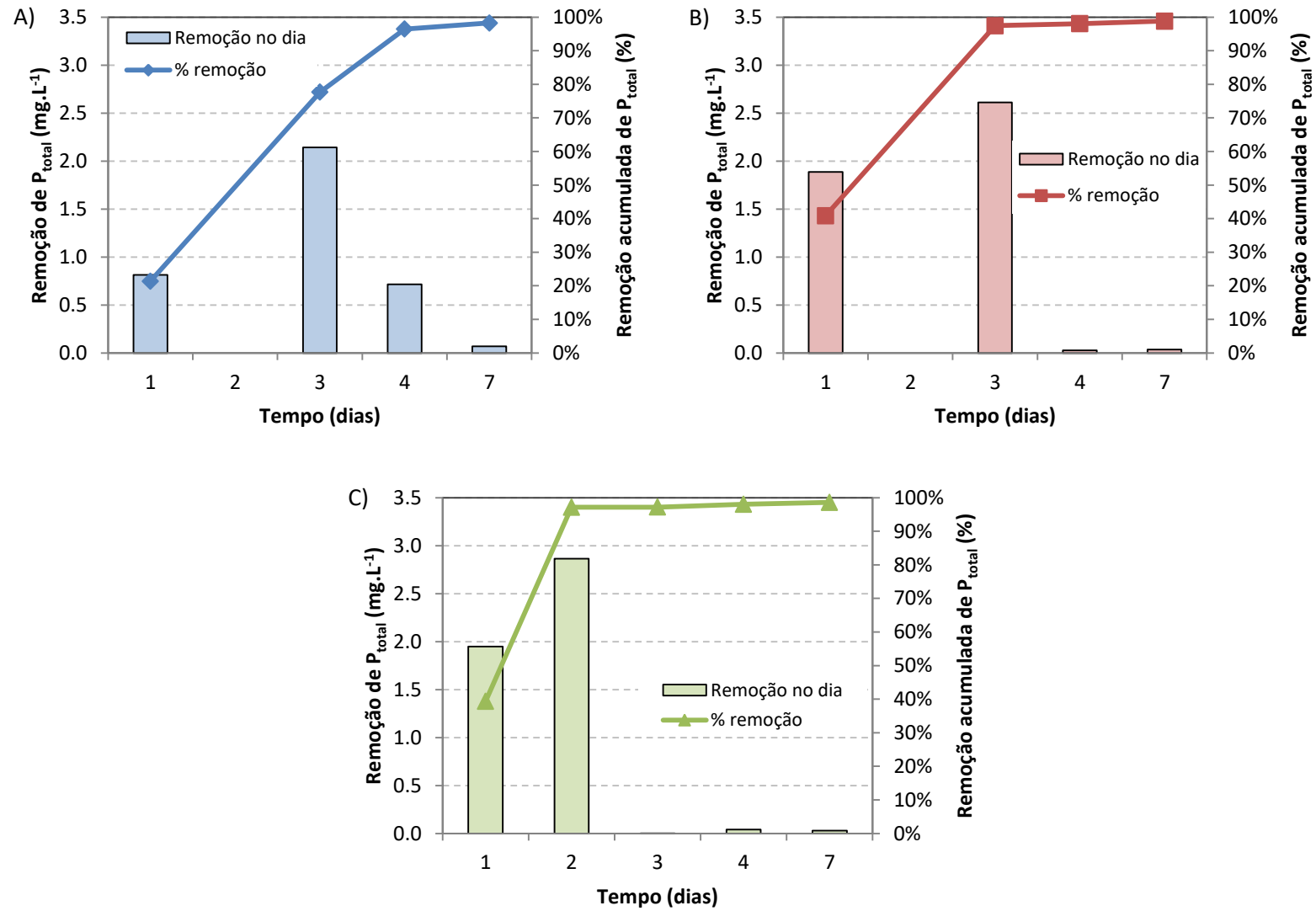
As taxas de remoção de N_{total} , calculadas conforme Equação 3 para o Experimento 04 (LED-média), foram de 11,10 $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$; e, para o Experimento 05 (LED-alta), o valor calculado foi ainda maior, atingindo 17,48 $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, considerando o final do experimento no terceiro dia para o Experimento 4 (LED-média) e no segundo dia para o Experimento 5 (LED-alta). Essa dado demonstra que o aumento da intensidade luminosa faz crescer a taxa de remoção de nitrogênio total pela cultura mista nativa de microalgas e bactérias utilizada neste estudo. No entanto, as variações da concentração de nitrogênio total em solução, após o terceiro e o segundo dia para os experimentos LED-média e LED-alta respectivamente, reforçam o impacto da influência da intensidade luminosa na atividade bacteriana.

Na revisão de literatura elaborada por Zhang; Li; Ho (2021), os autores evidenciam que as alterações da intensidade luminosa também modificam significativamente a concentração e eficiência do tratamento, especialmente na remoção de nitrogênio, pois impactam na atividade das bactérias heterotróficas, danificando organelas e alterando enzimas, o que reduz ainda mais a remoção de nitrogênio.

Os valores diários de remoção do fósforo total, em mg.L^{-1} , e as porcentagens de remoção acumuladas para os dois experimentos da Etapa 2, bem como a melhor situação

da Etapa 1, estão ilustrados assim: Figura 20 A) para o Experimento 2, utilizando apenas ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂ (melhor situação da Etapa 1), Figura 20 B) para o Experimento 04 (LED-média) e Figura 20 C) para o experimento 05 (LED-alta).

Figura 20 – Remoção do fósforo total em função do tempo para a melhor situação da Etapa 1 A) com 5% de CO₂; e experimentos da Etapa 2 B) LED-média e C) LED-alta.

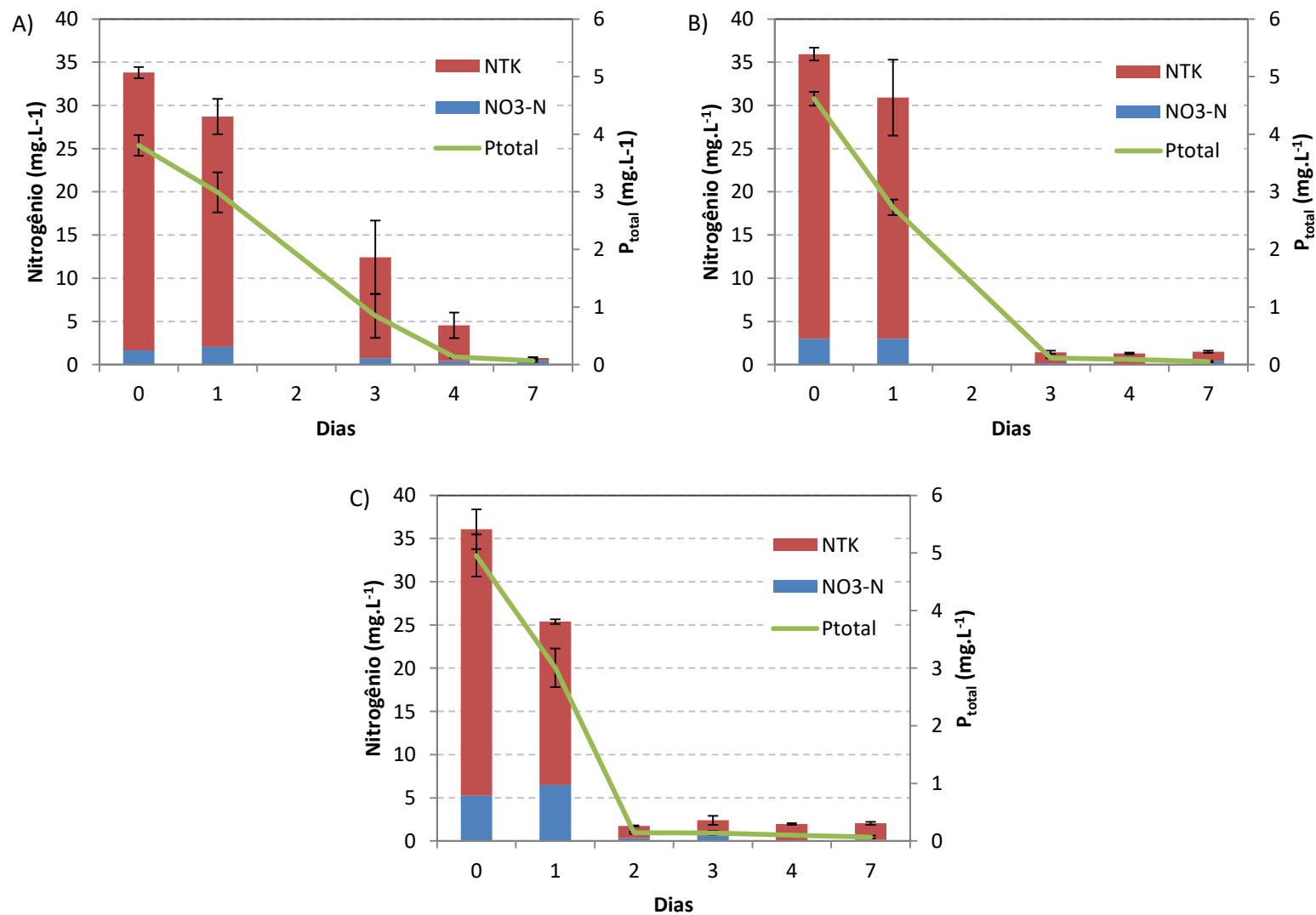


O aumento da intensidade luminosa intensificou a velocidade de remoção do fósforo total em solução, reduzindo o tempo de duração da batelada (remoção superior a 95% de fósforo total). A partir do terceiro dia, tanto no Experimento 04 (LED-média) como no Experimento 05 (LED-alta), a remoção média do fósforo total é da ordem de 98%.

As taxas de remoção de P_{total} , calculadas conforme Equação 3, para o Experimento 04 (LED-média) foi de $1,50 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ e, para o Experimento 05 (LED-alta), foi de $2,41 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, confirmando o previsto pela literatura, aumentar a intensidade luminosa leva ao crescimento das taxas de remoção de nutrientes (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017), porém não fez crescer significativamente o valor final de remoção de fósforo total.

Os perfis de remoção da série de nitrogênio (NTK e nitrato) e do fósforo total (P_{total}) para os dois experimentos da Etapa 2, bem como a melhor situação da Etapa 1, estão ilustrados assim: Figura 21 A) para o Experimento 2, utilizando apenas ar comprimido enriquecido com 5% de CO_2 (melhor situação da Etapa 1), Figura 21 B) para o Experimento 04 (LED-média) e Figura 21 C) para o Experimento 05 (LED-alta).

Figura 21 – Perfil de remoção de nutrientes em função do tempo para A) com 5% de CO₂ – Etapa 1; B) LED-média e C) LED-alta –Etapa 2.



Na Tabela 24, estão apresentados os valores iniciais e finais da razão N:P mássica para a melhor situação da Etapa 1 (5% CO₂) e para os dois experimentos da Etapa 2.

Tabela 24 – Relação N:P inicial e final para os experimentos da Etapa 2 e a melhor condição da Etapa 1.

Experimento	Relação mássica N _{total} :P _{total}	
	Inicial	Final
Etapa 1:		
2 (5% CO ₂)	9:1	31:1
Etapa 2:		
4 (LED-média)	8:1	12:1
5 (LED-alta)	7:1	12:1

O fósforo permaneceu como nutriente limitante para a Etapa 2, conforme Tabela 24 em que os valores finais de N:P>10. É importante destacar que as concentrações finais de nitrogênio e fósforo para os experimentos da Etapa 2 (LED-média e LED-alta) não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Os valores da DQO iniciais e finais, quando a remoção de fósforo total foi superior a 95%, estão apresentados na Tabela 25.

Tabela 25 – Valores iniciais e finais de DQO para a Etapa 2 e melhor situação da Etapa 1.

DQO (mg.L ⁻¹)			Taxa de remoção de DQO (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)
Experimento	Inicial	Final	
Etapa 1:			
2 (5% CO ₂)	222,0±106,1	168,7±16,5	13,3
Etapa 2:			
4 (LED-média)	175,9±19,0	101,4±8,4	18,6
5 (LED-alta)	159,2±19,0	131,4±9,6	6,9

O aumento da intensidade luminosa reduziu a taxa de remoção de DQO em solução para o Experimento 5 (LED-alta), reafirmando a influência da intensidade luminosa na dinâmica populacional das culturas mistas e a importância do entendimento do impacto desses fatores no crescimento dos microrganismos, buscando as melhores condições de tratamento.

Os valores das taxas de crescimento e percentuais de remoção para nitrogênio e fósforo, obtidos nos experimentos da Etapa 2 e na melhor condição da Etapa 1, foram comparados com os experimentos realizados para cultura pura de *Chlorella vulgaris* por Mayhead *et al.* (2018) e estão apresentados na Tabela 26.

Tabela 26 – Taxas de crescimento e porcentagens de remoção de nitrogênio e fósforo para os experimentos da Etapa 2 e melhor condição da Etapa 1.

Experimento/ Microrganismos	Meio de cultivo	Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	μ (d^{-1})	% Nitrogênio	% Fósforo	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i>	Meio F2P	177	0,71	-	90 $\text{PO}_4\text{-P}$	(MAYHEAD <i>et al.</i> , 2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Efluente primário (filtrado e autoclavado)	177	0,92	94 $\text{NH}_4\text{-N}$	98 $\text{PO}_4\text{-P}$	(MAYHEAD <i>et al.</i> , 2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Efluente primário	177	0,39	95 $\text{NH}_4\text{-N}$	97 $\text{PO}_4\text{-P}$	(MAYHEAD <i>et al.</i> , 2018)
2 (5% CO_2)	Efluente secundário	154	0,59	88 N_{total}	96 P_{total}	Este trabalho
4 (LED-média)	Efluente secundário	211	1,38	96 N_{total}	97 P_{total}	Este trabalho
5 (LED-alta)	Efluente secundário	304	1,32	95 N_{total}	97 P_{total}	Este trabalho

As culturas mistas de microalgas e bactérias tendem a ser uma melhor opção para o tratamento de efluentes, dada a dificuldade de manutenção de uma cultura pura, como é

possível observar pela redução da taxa de crescimento da cultura pura de *C. vulgaris* no efluente que não passou por autoclavagem e filtração. Também é possível perceber que o aumento da intensidade luminosa fez crescer a porcentagem de remoção de nitrogênio total, porém não alterou significativamente a porcentagem de remoção de fósforo total, conforme já discutido. É importante ressaltar novamente que, embora as porcentagens de remoção não tenham variado significativamente com a intensidade luminosa, as taxas de remoção variaram.

5.2.5 Remoção de Metais Pesados

Os valores iniciais e finais dos metais em solução para os dois experimentos da Etapa 2 e para a melhor condição da Etapa 1 estão apresentados na Tabela 27.

Tabela 27 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 2 e melhor condição da Etapa 1.

Metais (mg.L ⁻¹)		Al (VMP 0,1mg.L ⁻¹)	Cu (VMP 0,009mg.L ⁻¹)	Fe (VMP 0,3mg.L ⁻¹)
Etapa 1:				
5% CO ₂	t ₀	0,150±0,067	0,002±0,000	0,068±0,002
	t _f	0,081±0,010	0,002±0,001	ND
Etapa 2:				
LED- média	t ₀	0,309±0,008	0,008±0,003	0,077±0,000
	t _f	0,291±0,027	0,007±0,002	ND
LED- alta	t ₀	0,337±0,162	0,006±0,006	0,855±0,005
	t _f	0,305±0,009	0,005±0,003	0,261±0,008

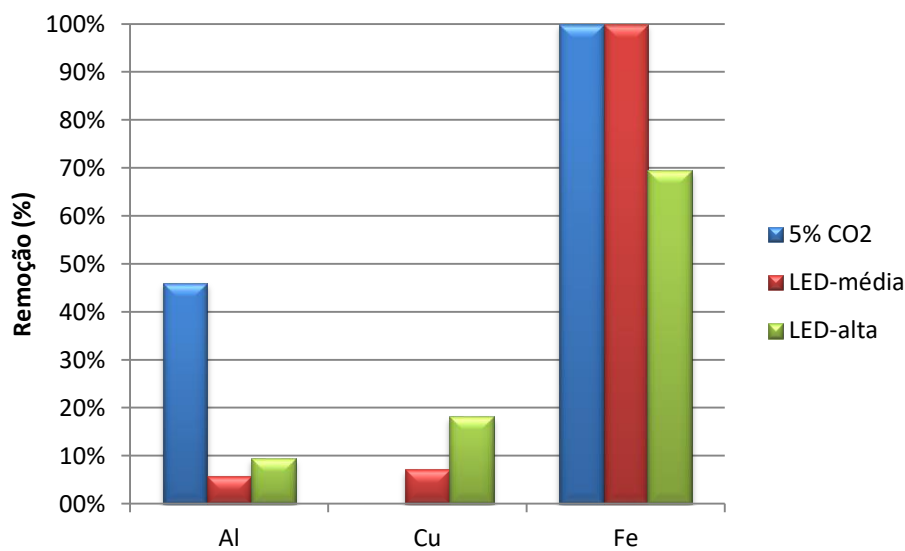
Abreviaturas: VMP – Valor Máximo Permitido (CONAMA, 2005); ND – não detectado;

t₀ – tempo inicial; t_f – tempo final.

As concentrações de alumínio na Etapa 02 para o experimento LED-média foram 106% maiores que o valor encontrado para o experimento com 5% de CO₂ da Etapa 01; e o experimento LED-alta, 124% maior. Essas variações pontuais também foram observadas no estudo desenvolvido por Pipi *et al.* (2018). O cobre seguiu comportamento similar, com

300% de aumento para o experimento LED-média, em relação ao experimento 5% de CO₂, e 200% para o experimento LED-alta. Já para o ferro, apenas o experimento LED-alta apresentou um aumento expressivo em relação ao experimento 5% de CO₂, com um aumento de 12 vezes no valor médio. Essas concentrações iniciais impactaram as porcentagens de remoção dos metais, apresentadas na Figura 22.

Figura 22 – Valores de remoção de Al, Cu e Fe para Etapa 2.



A remoção de ferro no Experimento 03 (LED-alta) provavelmente está associada à maior quantidade desse metal em solução no tempo inicial, dado que os experimentos da Etapa 01 (5% CO₂) e da Etapa 02 (LED-média) apresentaram 100% de remoção para o metal. A redução da remoção de alumínio na Etapa 02 em relação à Etapa 01 (5% CO₂) pode estar associada à concentração inicial, conforme valores apresentados na Tabela 27. O estudo realizado por Schmitt *et al.* (2001) demonstrou uma capacidade de bioacumulação de alumínio de $6,8 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{biomassa}}^{-1}$ para a espécie *Scenedesmus subspicatus*, e, por esse estudo utilizar uma comunidade mista nativa de microalgas e bactérias, a identificação de espécies pode trazer novas hipóteses para a discussão de remoção de metais.

5.2.6 **Considerações Etapa 2**

Com o aumento da intensidade luminosa, há também o aumento da atividade fotossintética que pode resultar na elevação do valor do pH do meio (FOLADORI; PETRINI; ANDREOTTOLA, 2018). Entretanto, todos os experimentos dessa etapa ocorreram com ar enriquecido com 5% de CO₂, o que colaborou para a manutenção dos valores de pH próximos aos obtidos no Experimento 02 da Etapa 1.

Os experimentos com maior intensidade luminosa também obtiveram maiores valores de densidade óptica em todos os comprimentos de onda, além de maior produção de biomassa na forma de sólidos suspensos totais, resultando em um aumento de mais de 200% para o Experimento 04 (LED-média), em relação à melhor situação da Etapa 1 (5% CO₂), e mais de 350% para o Experimento 5 (LED-alta), em relação à taxa calculada para de 5% de CO₂.

Embora as porcentagens de remoção de nitrogênio e fósforo, ao final dos experimentos, tenham atingido valores muito próximos, as taxas de remoção sofreram impacto do aumento da intensidade luminosa, atingindo o valor de 11,10 mg.L⁻¹.d⁻¹ de remoção de N_{total} para o Experimento 04 (LED-média) e 17,48 mg.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 05 (LED-alta). A taxa de remoção de P_{total} para o Experimento 04 (LED-média) foi de 1,50 mg.L⁻¹.d⁻¹ e, para o Experimento 05 (LED-alta), foi de 2,41 mg.L⁻¹.d⁻¹. Já para o caso da remoção de DQO em solução, houve uma redução para o Experimento 5 (LED-alta), reafirmando a influência da intensidade luminosa na dinâmica populacional e a importância do entendimento desses impactos no crescimento, nas taxas de remoção e na produção de biomassa das culturas mistas. Neste estudo, não foi observada uma clara ligação do aumento da intensidade luminosa com a remoção dos metais analisados.

Como avaliado por Mohsenpour *et al.* (2021), dado que o excesso de luz não é utilizado pelas algas – efeito conhecido como fotoinibição –, manter a intensidade luminosa no ponto de saturação da cultura mista de microalgas e bactérias tem vantagens econômicas e operacionais, pois evita o desperdício de eletricidade. Além disso, Li *et al.* (2019) defendem que a intensidade luminosa pode ter um efeito negativo na absorção de fósforo pelas microalgas, diminuindo a produtividade de biomassa caso ocorra um aumento da razão C:P.

Os principais parâmetros obtidos na Etapa 2, comparados com a melhor condição da Etapa 1 (5% CO₂), estão apresentados na Tabela 28.

Tabela 28 – Principais parâmetros obtidos para os experimentos da Etapa 2 e para melhor condição da Etapa 1.

Parâmetro	ETAPA 1	ETAPA 2	
	Experimento 2 (5% CO ₂)	Experimento 4 (LED-média)	Experimento 5 (LED-alta)
pH (dia 7)	6,28±0,04	6,30±0,05	6,39±0,25
Densidade óptica - 680 nm (dia 7)	1,65±0,02	2,29±0,01	2,46±0,01
Densidade óptica - 750 nm (dia 7)	1,09±0,01	1,79±0,04	2,02±0,04
Taxa de produção de SST (g.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,07	0,22	0,30
Taxa de crescimento global (d ⁻¹) *	0,59±0,06	1,38±0,08	1,32±0,05
Taxa de remoção de N _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	7,42	11,10	17,18
Taxa de remoção de P _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,92	1,50	2,41
N:P *	31:1	12:1	12:1

Legenda: * considerando o final do experimento quando a remoção de P_{total} atingiu 95%.

Para a avaliação do impacto da temperatura, o próximo experimento foi realizado com inserção de ar enriquecido com 5% de CO₂ e 2 fitas de LEDs, pois, embora os resultados com maior intensidade luminosa tenham ocorrido em um intervalo de tempo menor, a maior taxa de crescimento global foi alcançada no experimento 4 (LED-média). Além disso, não houve diferença estatística na produção de biomassa e na remoção de nitrogênio e fósforo entre os Experimentos 4 (LED-média) e 5 (LED-alta), a variação ocorreu nas taxas de remoção de nutrientes, o que reforça que o aumento da intensidade luminosa aumenta as taxas, porém até o limite da fotoinibição.

5.3 Etapa 3: Avaliação da Variação de Temperatura

Esta etapa experimental foi realizada em triplicata biológica nas mesmas condições já mencionadas nos itens 5.1 e 5.2, ou seja, com ar comprimido enriquecido com 5% de

CO₂ e intensidade luminosa média de 211±3 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, através de 5 lâmpadas e duas fitas de LED. A temperatura média foi de 38±5 °C e a remoção de fósforo total atingiu 95,7% no segundo dia. No sétimo dia, a cultura estava amarelada, devido à baixa disponibilidade de nutrientes, causando stress celular e morte da cultura, logo esses valores foram desconsiderados.

Na Tabela 29, estão apresentas as características do experimento realizado na Etapa 3 e as melhores condições obtidas nas Etapas 1 e 2.

Tabela 29 – Caracterização dos experimentos realizados na Etapa 3.

	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Parâmetros	Experimento 2 (5% CO₂)	Experimento 4 (LED-média)	Experimento 6 (TEMP)
Enriquecimento com CO ₂	5%	5%	5%
Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	154±2	211±3	211±3
Temperatura (°C)	26±3	25±5	38±5
pH	7,08±0,05	7,75±0,03	6,97±0,02
Alcalinidade (mgCaCO ₃ .L ⁻¹)	100,8±3,0	117,3±1,6	153,0±2,6
P _{total} (mg.L ⁻¹)	3,81±0,18	4,62±0,12	6,32±0,19
N _{total} (mg.L ⁻¹)	33,80±1,13	34,73±0,91	43,63±0,98
DQO (mg.L ⁻¹)	222,00±106,07	175,89±18,95	245,89±5,09
SST (g.L ⁻¹)	0,08±0,01	0,10±0,02	0,11±0,02

O objetivo desta etapa foi avaliar o impacto do aumento da temperatura na remoção de nutrientes e de metais em solução, além da produção de biomassa da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias.

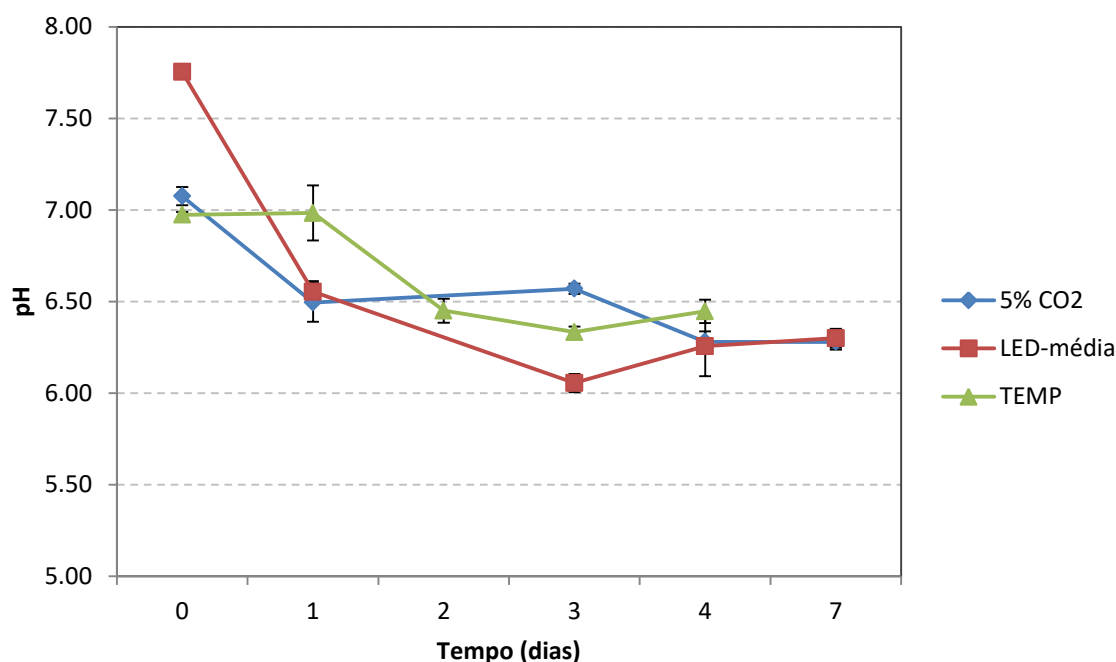
Como o aumento da temperatura, há uma tendência de aumentar as taxas de crescimento e remoção, e este experimento foi analisado como perfil diário de crescimento e remoção de nutrientes.

Os resultados obtidos na Etapa 3 relativos a pH, alcalinidade, densidade óptica, sólidos em suspensão, clorofila *a*, densidade celular, remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e remoção de metais são discutidos nos itens de 5.3.1 até 5.3.5 e comparados com as melhores condições obtidas na Etapa 1 (5% CO₂) e na Etapa 2 (LED-média).

5.3.1 pH e Alcalinidade

Os dados de monitoramento dos valores de pH para a Etapa 3 estão apresentados na Figura 23, juntamente com a melhor situação da Etapa 1 (5% CO₂) e da Etapa 2 (LED-média). O valor de pH e a dissociação do CO₂ em bicarbonato (HCO₃⁻) e carbonato (CO₃²⁻) são influenciados pela temperatura (MOHSENPOUR *et al.*, 2021). Observando os valores de pH obtidos no Experimento 6 (TEMP), percebemos um pequeno aumento em relação aos valores obtidos no Experimento 4 (LED-média), ambos com a mesma intensidade luminosa e com ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂.

Figura 23 – Variação dos valores de pH em função do tempo para a Etapa 3 em relação às melhores condições das Etapas 1 e 2.



O valor do pH tem impacto nos microrganismos, causando mudanças fisiológicas. Portanto, é importante manter o valor do pH entre 7,0 e 9,0, ideal para a maioria das espécies de microalgas, e esse controle pode ser feito variando a concentração de CO₂ no ar comprimido adicionado à cultura, de modo que o aumento da concentração de gás carbônico tende a reduzir os valores de pH. Por outro lado, o crescimento microalgal e a atividade fotossintética podem levar ao aumento do valor do pH, sendo, então, um parâmetro importante de monitoramento e acompanhamento para o bom cultivo de culturas mistas (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

Os valores de pH apresentados na Figura 23 estão entre 6,0 e 7,0 após o primeiro dia do experimento, evidenciando que a condição que causou maior impacto na variação dos valores de pH foi o enriquecimento do ar comprimido com CO₂, conforme discutido no item 5.1.1. As alterações de intensidade luminosa e temperatura apresentaram uma menor influência nos valores de pH em comparação ao acréscimo de CO₂.

Os valores de alcalinidade inicial e final para o experimento da Etapa 3 e melhores condições das Etapa 1 e 2 estão apresentados na Tabela 30.

Tabela 30 – Valores de alcalinidade iniciais e finais para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.

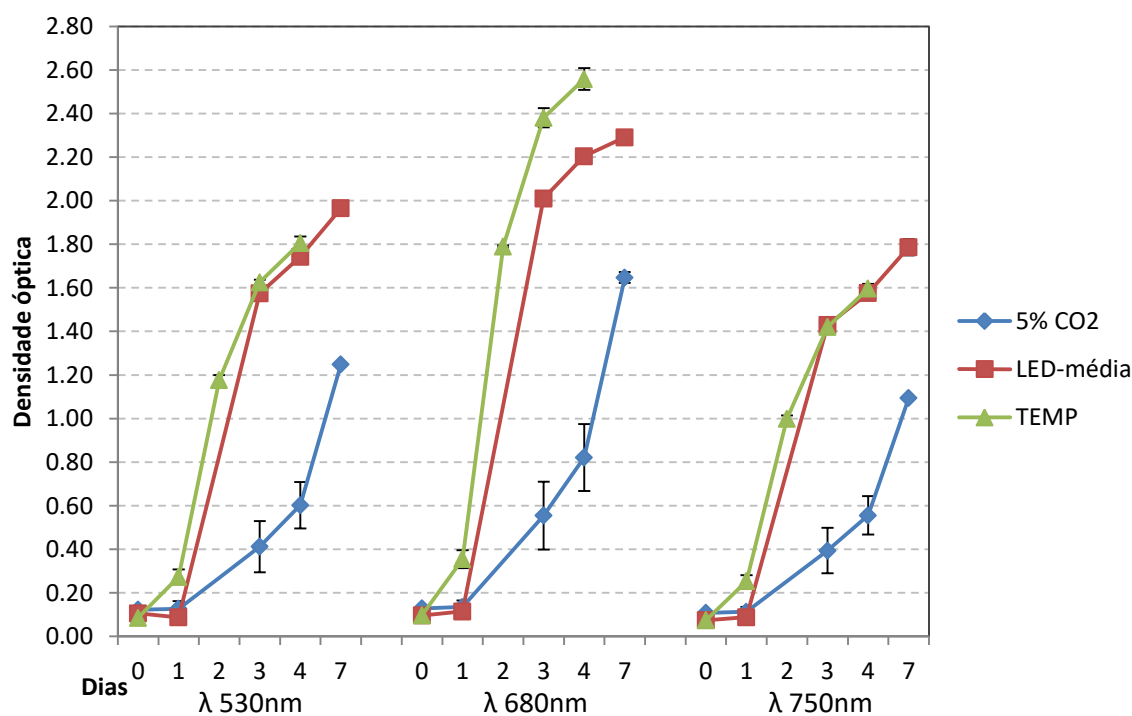
Alcalinidade (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)		
Experimento	Inicial	Final
Etapa 1:		
2 (5% CO ₂)	100,8±3,0	57,8±4,5
Etapa 2:		
4 (LED-média)	117,3±1,6	50,5±1,2
Etapa 3:		
6 (TEMP)	153,0± 2,6	76,0± 2,5

Todos os experimentos apresentados na Tabela 30 foram realizados com suplementação de 5% de CO₂, melhor condição determinada na Etapa 1. Observamos, portanto, o mesmo comportamento discutido no item 5.2.1, em que o consumo de alcalinidade é semelhante entre os três experimentos, o que indica que a variação da temperatura também não produziu alterações significativas no consumo de alcalinidade, como a variação da intensidade luminosa (Etapa 2) também não produziu, pois a alcalinidade está associada ao consumo de carbono inorgânico pelas microalgas (SLOMPO *et al.*, 2020), conforme discutido nos itens 5.1.1 e 5.2.1.

5.3.2 *Densidade óptica e Sólidos em Suspensão Totais (produção de biomassa)*

O aumento da temperatura impactou na variação da densidade óptica em 530 nm, 680 nm e 750 nm, conforme valores apresentados na Figura 24.

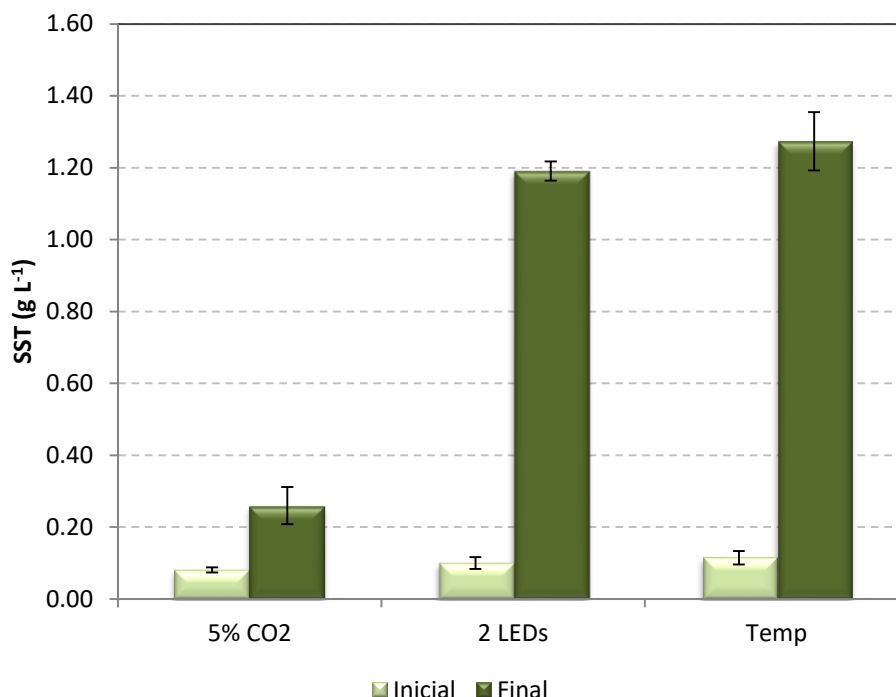
Figura 24 – Variação dos valores médios da densidade óptica em comprimentos de onda de 530 nm, 680 nm e 750 nm em função do tempo para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.



O aumento da temperatura conduziu ao aumento da atividade metabólica e, consequentemente, ao aumento da produção de biomassa, aumentando também os valores de densidade óptica em todos os comprimentos de onda até o terceiro dia. O aumento da densidade óptica em 750 nm ocorreu apenas até o segundo dia, seguindo o mesmo comportamento do Experimento 4 (LED-média) após o terceiro dia. No comprimento de onda de 680 nm, os valores de densidade óptica obtidos no Experimento 6 (TEMP) foram superiores aos obtidos nas melhores condições das Etapas 1 e 2, porém os valores finais obtidos para os comprimentos de onda de 530 nm e 750 nm na Etapa 3 foram muito próximos aos da Etapa 2, mostrando que o aumento da temperatura não causou impactos evidentes nesses comprimentos de onda.

Os valores médios de sólidos em suspensão totais, apresentados na Figura 25, demonstra que o aumento da temperatura resultou em produção de biomassa 6% maior em relação ao Experimento 04 (LED-média), conforme previsto na literatura (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016).

Figura 25 – Valores médios de sólidos em suspensão totais (SST) no início e no final para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.



É importante destacar que, no Experimento 6 (TEMP), o tempo de duração da batelada foi de quatro dias, pois, no sétimo dia, a cultura estava amarelada devido à baixa disponibilidade de nutrientes, causando stress celular e morte da cultura.

Os valores da taxa de produtividade, calculados conforme Equação 1, foram de 0,07 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 02 (5% CO₂), 0,22 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 04 (LED-média) e 0,29 g.L⁻¹.d⁻¹ para o Experimento 06 (TEMP), com aumento da temperatura – um aumento de 6% em relação à taxa obtida pelo Experimento 04 (LED-média) –, confirmando que o aumento da temperatura fez crescer a taxa de produtividade em relação à Etapa 2.

Cada espécie tem uma temperatura ideal de crescimento, que usualmente varia de 10 a 35 °C (LIU *et al.*, 2017a). Embora o aumento da temperatura tenha promovido uma maior atividade, que resultou em uma maior produção de biomassa, para a cultura mista

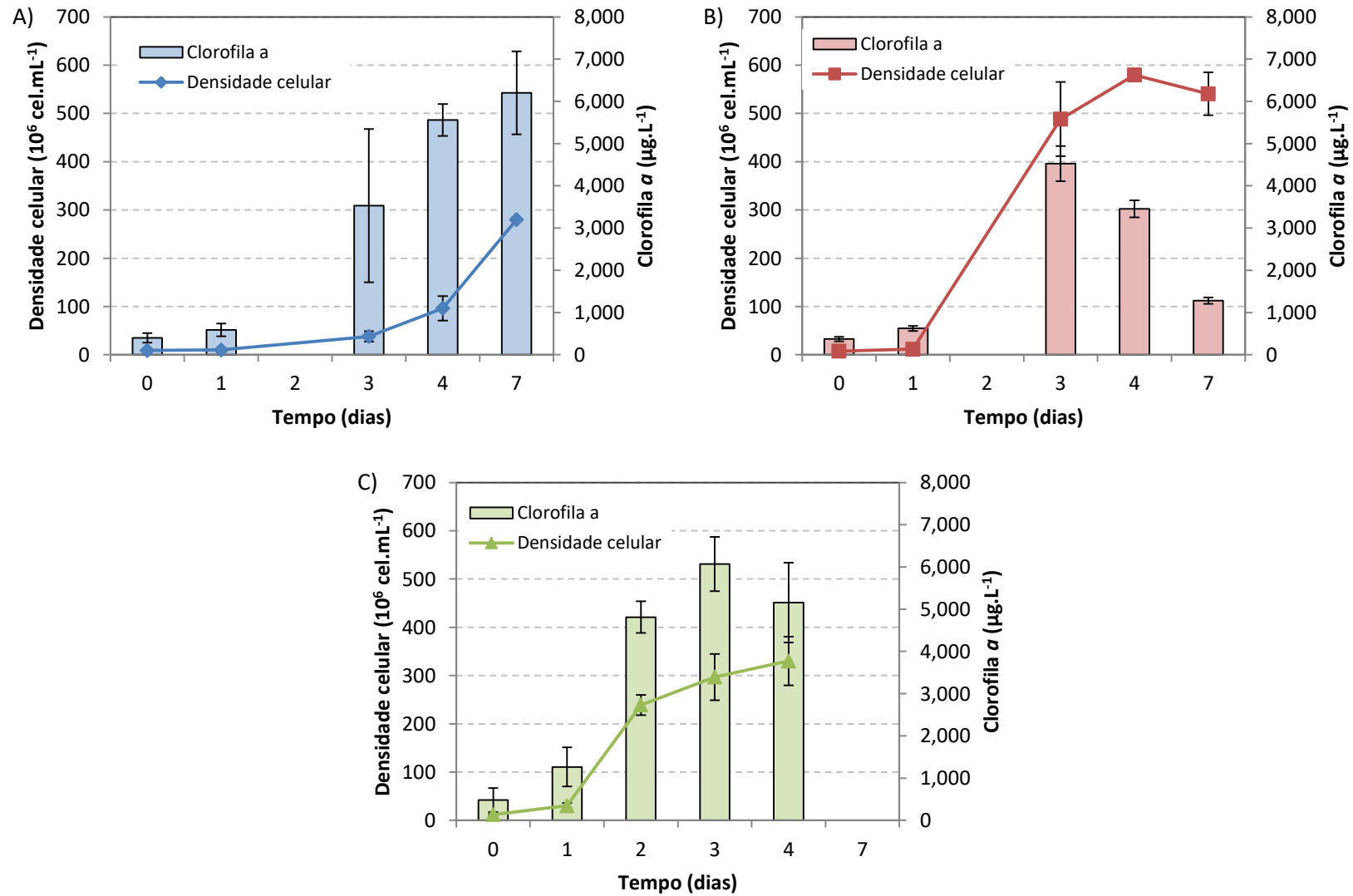
nativa de microalgas e bactérias usada neste estudo, os valores de sólidos em suspensão totais (SST) para os Experimentos 04 (LED-média) e 06 (TEMP) não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

A produtividade da biomassa também foi positivamente afetada pela temperatura no estudo realizado por Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016), usando uma cultura mista nativa para tratar águas residuais urbanas, na qual o melhor resultado foi obtido em 25°C, a maior temperatura do experimento, apresentando um aumento de produtividade de cerca de 63%.

5.3.3 *Densidade celular, clorofila *a* e cálculo da taxa de crescimento*

Os valores de densidade celular e clorofila *a* para o Experimento 6 (TEMP) da Etapa 3, bem como as melhores condições da Etapa 1 (5% CO₂) e da Etapa 2 (LED-média) estão apresentados na Figura 26.

Figura 26 – Densidade celular e clorofila *a* em função do tempo para A) 5% CO₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP – Etapa 3.



Segundo Mohsenpour *et al.* (2021), a concentração de clorofila nas células das microalgas é utilizada para equilibrar a relação intensidade luminosa e temperatura. Portanto, ao aumentar a temperatura na Etapa 3 para a mesma intensidade luminosa utilizada na Etapa 2, as células das microalgas tenderam a apresentar uma concentração maior de clorofila, como foi discutido no item 5.2.3 e é possível observar na Figura 26, na qual vê-se que o maior valor de clorofila *a* obtido no Experimento 4 (LED-média) foi de 4,5 mg.L⁻¹ e no Experimento 06 (TEMP) foi de 6,1 mg.L⁻¹.

As taxas de crescimento calculadas, conforme Equação 2, para as melhores condições das etapas 1 (5% CO₂) e 2 (LED-média), além dos valores referentes ao Experimento 6 (TEMP), estão demonstradas na Tabela 31.

Tabela 31 – Taxas de crescimento μ (d⁻¹) por dia para o experimento da Etapa 3 e para as melhores situações das Etapas 1 e 2.

Tempo (dias)	μ (d ⁻¹)		
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
	2 5% CO₂	4 LED-média	6 TEMP
1	0,12±0,03	0,41±0,19	0,92±0,05
2	-	-	2,07±0,26
3	0,66±0,12	1,87±0,04	0,21±0,25
4	0,94±0,02	0,18±0,17	0,11±0,18
7	0,36±0,09	-0,02±0,02	-

A maior taxa de crescimento foi obtida no dia 2 para o Experimento 6 (TEMP) e a remoção atingiu valores superiores a 95%. A partir do dia 3, há uma significativa redução na taxa de crescimento dada a baixa disponibilidade de nutrientes, pois os valores de N_{total} e P_{total} no dia 3 foram de 2,03±0,12 mg.L⁻¹ e 0,18±0,02 mg.L⁻¹, respectivamente.

O estudo realizado por Fallahi *et al.* (2020) se deu com temperatura de 32°C e as taxas de crescimento estão apresentadas na Tabela 32, bem como a taxa de crescimento global calculada para o Experimento 6 (TEMP) e as melhores condições das etapas 1 (5% CO₂) e 2 (LED-média), considerando o final do experimento quando a remoção de fósforo total atingiu um valor superior a 95%.

Tabela 32 – Taxas de crescimento globais calculadas para as melhores situações das Etapas 1 e 3 e para o experimento da Etapa 3.

Experimento	μ (dia ⁻¹)	Referência
<i>C. vulgaris</i>	$0,15 \pm 0,02$	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>S. obliquus</i>	$0,15 \pm 0,03$	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	$0,20 \pm 0,04$	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
Cultura mista	$0,19 \pm 0,05$	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
2 (5% CO ₂)	$0,59 \pm 0,06$	Este trabalho
4 (LED-média)	$1,38 \pm 0,08$	Este trabalho
6 (TEMP)	$1,50 \pm 0,10$	Este trabalho

Os valores de taxa de crescimento diária obtidos no presente estudo foram superiores aos obtidos por Fallahi *et al.* (2020), pois estes autores não utilizaram CO₂, intensidade luminosa de $104 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperatura de 32°C, enquanto nosso estudo foi realizado com enriquecimento de 5% de CO₂ no ar comprimido – conforme discutido no item 5.1 referente à Etapa 1 –, bem como pela intensidade luminosa de $211 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ nos Experimentos 4 (LED-média) da Etapa 2 e 6 (Temp) da Etapa 3 e temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$ no Experimento 4 (LED-média) da Etapa 2 e $38 \pm 5^\circ\text{C}$ no Experimento 6 (Temp).

5.3.4 Remoção de Nutriente e DQO

Segundo Kube *et al.* (2018) o efeito da temperatura sobre as algas varia entre as espécies, sendo que, para várias espécies de algas, o aumento na temperatura resulta em uma maior taxa de crescimento e de remoção de nutrientes. No entanto, como a temperatura tem um impacto diferente na remoção de nitrogênio do que tem na remoção do fósforo, este é um parâmetro importante a ser considerando quando tratamos de remoção simultânea de nutrientes.

Na Tabela 33, estão apresentadas as concentrações diárias de nitrogênio total (N_{total}) e de fósforo total (P_{total}) em mg.L⁻¹ para o experimentos da Etapa 3 e para as melhores

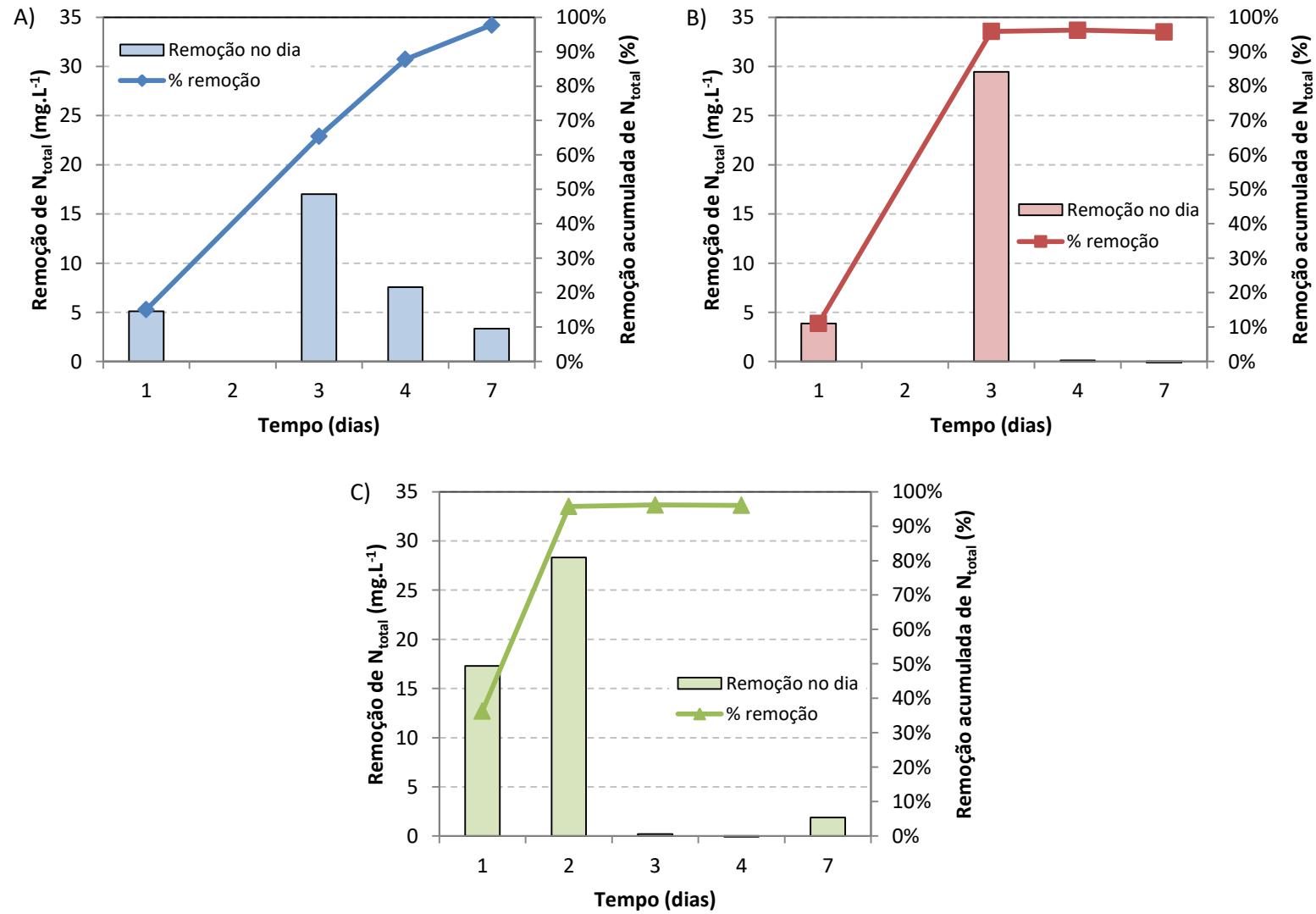
condições das Etapas 1 e 2. O experimento da Etapa 3, que também recebeu ar enriquecido com 5% de CO₂ e intensidade luminosa de $211 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, apresentou concentrações de nitrogênio e fósforo bastante reduzidas a partir do segundo dia de experimento, já atingindo o valor de remoção de P_{total} superior a 95%. No sétimo dia, o reator estava amarelado, o que pode ser um indicativo de stress e morte da cultura devido às baixas concentrações de nutrientes, portanto as análises deste dia não foram realizadas.

Tabela 33 — Concentrações diárias de nitrogênio total e fósforo total (mg.L⁻¹) em solução do experimento da Etapa 3 e das melhores situações das Etapas 1 e 2.

Tempo (d)		0	1	2	3	4	7
Etapa 1							
5% CO₂	N _{total}	33,80±1,13	28,70±2,69	-	11,69±4,26	4,13±1,48	0,77±0,55
	P _{total}	3,81±0,18	2,99±0,35	-	0,85±0,38	0,13±0,02	0,07±0,02
Etapa 2							
LED-média	N _{total}	34,73±0,91	30,87±4,85	-	1,43±0,05	1,31±0,09	1,49±0,11
	P _{total}	4,62±0,12	2,73±0,13	-	0,12±0,01	0,09±0,01	0,05±0,01
Etapa 3							
TEMP	N _{total}	47,63±0,98	30,33±3,65	2,03±0,12	1,82±0,17	1,88±0,32	-
	P _{total}	6,32±0,19	3,14±0,16	0,18±0,02	0,16±0,02	0,12±0,01	-

Os valores diários de remoção do nitrogênio total, em mg.L⁻¹, e as porcentagens de remoção acumuladas para o experimento da Etapa 3, bem como as melhores situações das Etapas 1 e 2, estão ilustrados assim: Figura 27 A) para o Experimento 2 utilizando apenas ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂ (melhor situação da Etapa 1), Figura 27 B) para o Experimento 04 (melhor situação da Etapa 2) utilizando $211 \pm 3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (LED-média) e Figura 27 C) para o Experimento 06 com 38°C (TEMP).

Figura 27 – Valores de remoção do nitrogênio total em função do tempo para A) com 5% de CO₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP – Etapa 3.



As taxas de remoção de N_{total} calculadas conforme Equação 3 foram 7,42 $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o Experimento 2 (5% CO_2), melhor situação da Etapa 1; 11,10 $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o Experimento 4 (LED-média), melhor situação da Etapa 2 e 22,80 $\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o Experimento 6 (TEMP) da Etapa 3.

Segundo Von Sperling (2007), a temperatura influencia a volatilização da amônia, pois quanto maior a temperatura, maior a concentração de NH_3 , o que explicaria parte desse significativo aumento na taxa de remoção de N_{total} para o Experimento 6, além das maiores taxas de crescimento e produção de biomassa, conforme discutido nos itens 5.3.2 e 5.3.3.

Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016) estudaram a influência da temperatura e do fotoperíodo na geração da biomassa e na remoção de nitrogênio e fósforo dissolvidos de efluentes municipais por uma cultura mista nativa de microalgas e bactérias. Segundo os autores, a taxa de remoção de NH_4^+ foi maior em temperaturas mais altas e fotoperíodos mais longos, resultado do maior crescimento microalgal e também de fatores abióticos, como a volatilização da amônia e a atividade das bactérias nitrificantes. As taxas obtidas neste estudo e as obtidas pelos autores estão apresentadas na Tabela 34.

Tabela 34 – Comparação entre as taxas de remoção de nitrogênio para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.

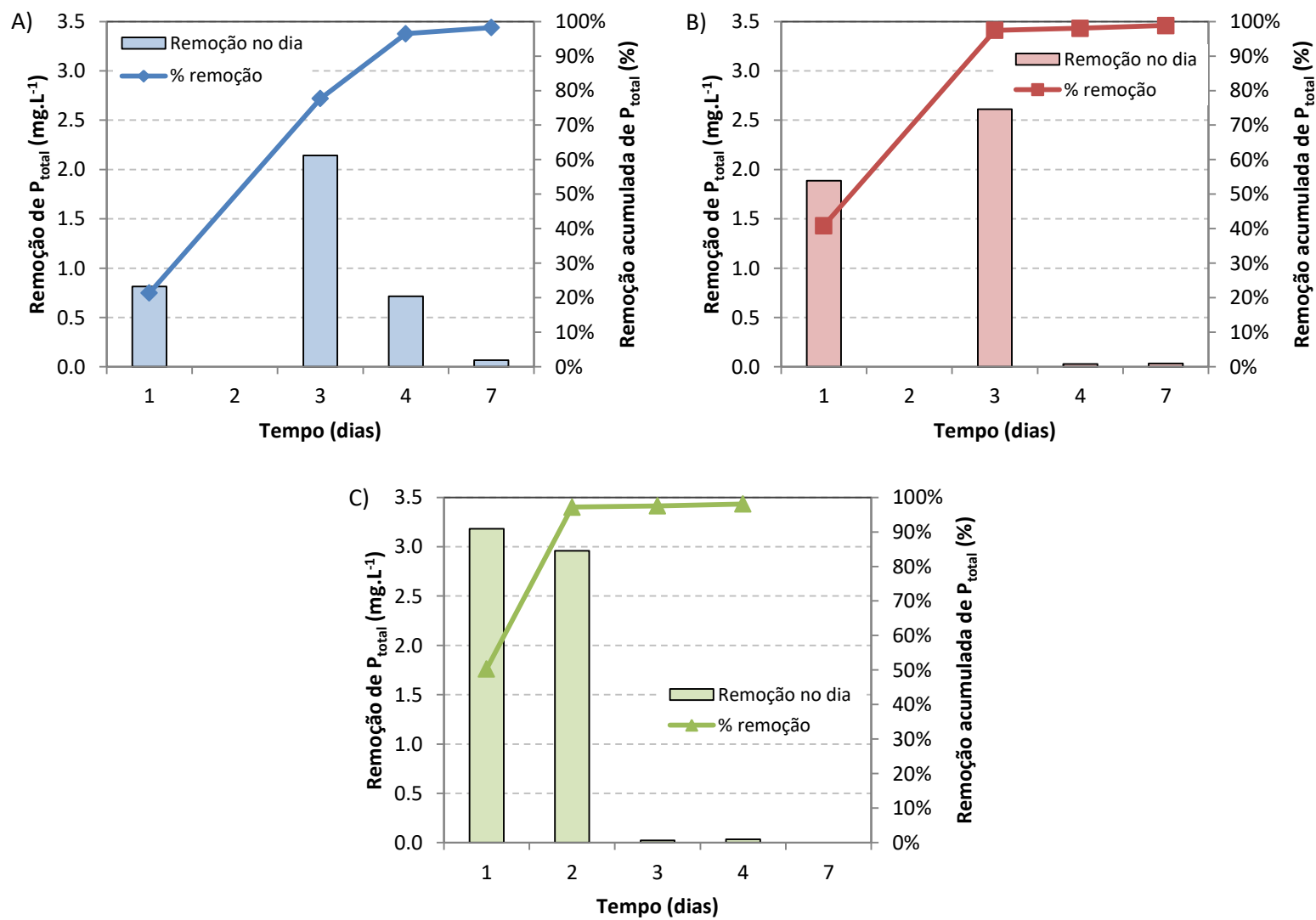
Experimento	Temperatura (°C)	Intensidade luminosa ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Taxa de remoção de N ($\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)	Referência
B15-12	15	200-250	2,88 NH_4^+	(DELGADILLO-MIRQUEZ <i>et al.</i> , 2016)
B25-12	25	200-250	7,68 NH_4^+	(DELGADILLO-MIRQUEZ <i>et al.</i> , 2016)
2 (5% CO_2)	26 ± 3	154 ± 2	7,42 N_{total}	Este trabalho
4 (LED-média)	25 ± 5	211 ± 3	11,10 N_{total}	Este trabalho
6 (TEMP)	38 ± 5	211 ± 3	22,80 N_{total}	Este trabalho

Segundo Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016), entre 25 e 33% do nitrogênio total não foi contabilizado ao final dos experimentos a 15 °C (B15-12) e a 25 °C (B25-12) com 12h de fotoperíodo, respectivamente, sendo improvável que tenha ocorrido desnitrificação, pois as bateladas foram realizadas em garrafas abertas e agitadas, condições similares às realizadas neste estudo. Portanto, a associação feita pelos autores para o fenômeno de perda de nitrogênio é a volatilização da amônia, que depende do equilíbrio gás-líquido na solução, cujos coeficientes de Henry aumentam com a temperatura, favorecendo maior volatilização em temperaturas mais altas (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016).

Para o caso deste estudo, além da tendência de aumento da volatilização da amônia com a temperatura, o Experimento 6 (TEMP) também apresentou maior taxa de crescimento, conforme discutido no item 5.3.3, além de maior produtividade de biomassa, fatores que impactam positivamente na remoção de nutrientes.

Os valores diários de remoção do fósforo total, em mg.L^{-1} , e as porcentagens de remoção acumuladas para o experimento da Etapa 3, bem como as melhores situações das Etapas 1 e 2 estão ilustrados assim: Figura 28 A) para o Experimento 2 (5% CO_2), melhor situação da Etapa 1, Figura 28 B) para o Experimento 4 (LED-média), melhor situação da Etapa 2 e Figura 28 C) para o Experimento 6 (TEMP).

Figura 28 – Valores de remoção do fósforo total em função do tempo para A) com 5% de CO₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP – Etapa 3.



O tempo de duração da batelada com o aumento da temperatura foi de dois dias, atingindo um valor superior a 97% de remoção de fósforo total. As taxas de remoção de P_{total} , calculadas conforme Equação 3, foram: para o Experimento 2 (5% CO_2), de $0,92 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$; $1,50 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o Experimento 4 (LED-média) e, para o Experimento 06 (TEMP), de $3,07 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, um aumento de 105% em relação ao Experimento 04 (LED-média), comprovando o aumento na velocidade de remoção dos nutrientes.

A comparação entre as taxas de remoção obtidas neste trabalho, quando o experimento atingiu um valor igual ou superior a 95% de remoção de fósforo total dissolvido e o estudo realizado por Fallahi *et al.* (2020), está apresentada na Tabela 35.

Tabela 35 – Taxas de remoção de fósforo para as melhores situações das Etapas 1 e 2 e para o experimento da Etapa 3.

Experimento	Temperatura (°C)	Taxa de remoção de fósforo ($\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)	Taxa de remoção de nitrogênio ($\text{mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$)	Referência
<i>C. vulgaris</i>	32	$1,75 \pm 0,3$ ($PO_4\text{-P}$)	$4,40 \pm 0,3$ ($NO_3\text{-N}$)	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>S. obliquus</i>	32	$1,75 \pm 0,3$ ($PO_4\text{-P}$)	$4,80 \pm 0,2$ ($NO_3\text{-N}$)	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	32	$2,30 \pm 0,5$ ($PO_4\text{-P}$)	$4,80 \pm 0,2$ ($NO_3\text{-N}$)	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
Cultura mista	32	$3,50 \pm 0,6$ ($PO_4\text{-P}$)	$5,75 \pm 0,5$ ($NO_3\text{-N}$)	(FALLAHI <i>et al.</i> , 2020)
2 5% CO_2	26 ± 3	0,92 (P_{total})	7,42 (N_{total})	Este trabalho
4 (LED-média)	25 ± 5	1,50 (P_{total})	11,10 (N_{total})	Este trabalho
6 (TEMP)	38 ± 5	3,07 (P_{total})	22,80 (N_{total})	Este trabalho

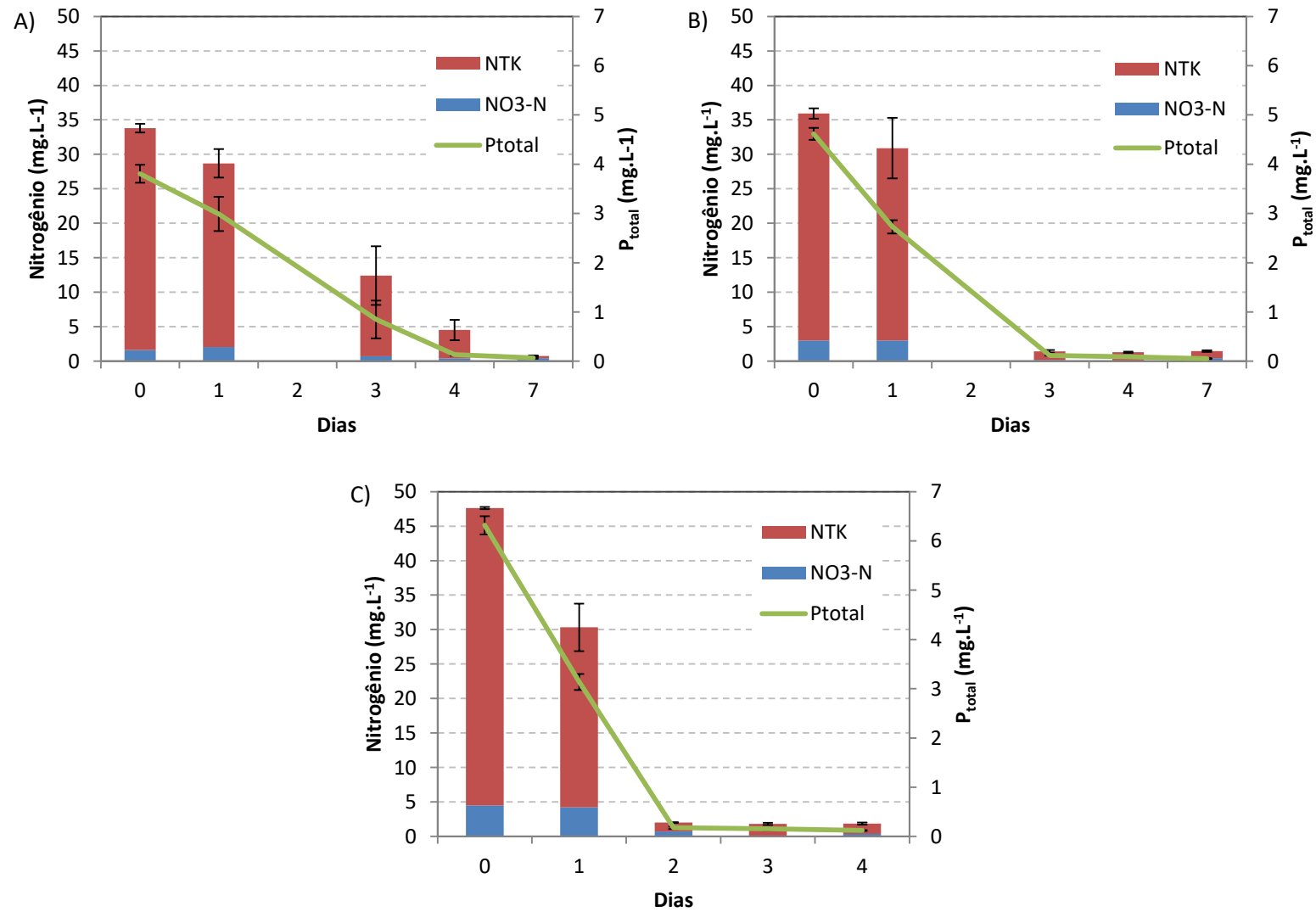
Como já discutido no item 5.2.4, as culturas mistas de microalgas e bactérias, além de mais adaptadas ao tratamento de efluentes, tendem a apresentar maiores taxas de remoção de nutrientes em relação às culturas puras, conforme estudo de Fallahi *et al.*

(2020). O aumento da temperatura promoveu um aumento nas taxas de remoção de nitrogênio e fósforo no experimento 6 (TEMP) em relação às melhores condições das Etapas 1 e 2 deste estudo, com valores próximos aos encontrados na literatura.

Fallahi *et al.* (2020) concluem que o uso de comunidades mistas de microalgas e bactérias é uma forma sustentável para aumentar a eficiência de remoção de fósforo, uma característica importante da simbiose entre microalgas e bactérias.

Na Figura 29, estão apresentados os perfis de remoção da série de nitrogênio (NTK e nitrato) e do fósforo total (P_{total}) para Figura 29 A) o Experimento 2 (5% CO_2), melhor situação da Etapa 1, Figura 29 B) o Experimento 4 (LED-média), melhor situação da Etapa 2 e Figura 29 C) para o Experimento 6 (TEMP).

Figura 29 – Perfil de remoção de nutrientes para A) com 5% de CO₂ – Etapa 1; B) LED-média – Etapa 2 e C) TEMP – Etapa 3.



Na Tabela 36, estão apresentados os valores iniciais e finais da razão N:P mássica para a o experimento da Etapa 3 (TEMP) e as melhores condições da Etapa 1 (5% CO₂) e Etapa 2 (LED-média).

Tabela 36 – Relação N:P inicial e final para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.

Relação mássica $N_{total}:P_{total}$		
Experimento	Inicial	Final
Etapa 1:		
2 (5% CO ₂)	9	31
Etapa 2:		
4 (LED-média)	8	12
Etapa 3:		
6 (TEMP)	8	11

O fósforo também permaneceu como nutriente limitante para a Etapa 3, conforme Tabela 36, em que estão os valores finais de N:P>10. Todavia, com o aumento da temperatura, a taxa de remoção de nitrogênio total cresceu, e a relação N:P alterou-se em relação ao Experimento 2 (5% CO₂), melhor condição da Etapa 1.

Os valores iniciais e finais da DQO para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2 estão demonstrados na Tabela 37. Com o aumento da temperatura, a taxa de remoção de DQO também aumentou, seguindo a tendência de maior taxa de crescimento, conforme discutido no item 5.3.3, além de maior produtividade de biomassa, fatores que impactam positivamente na remoção de nutrientes, bem como na tendência de aumento da volatilização da amônia.

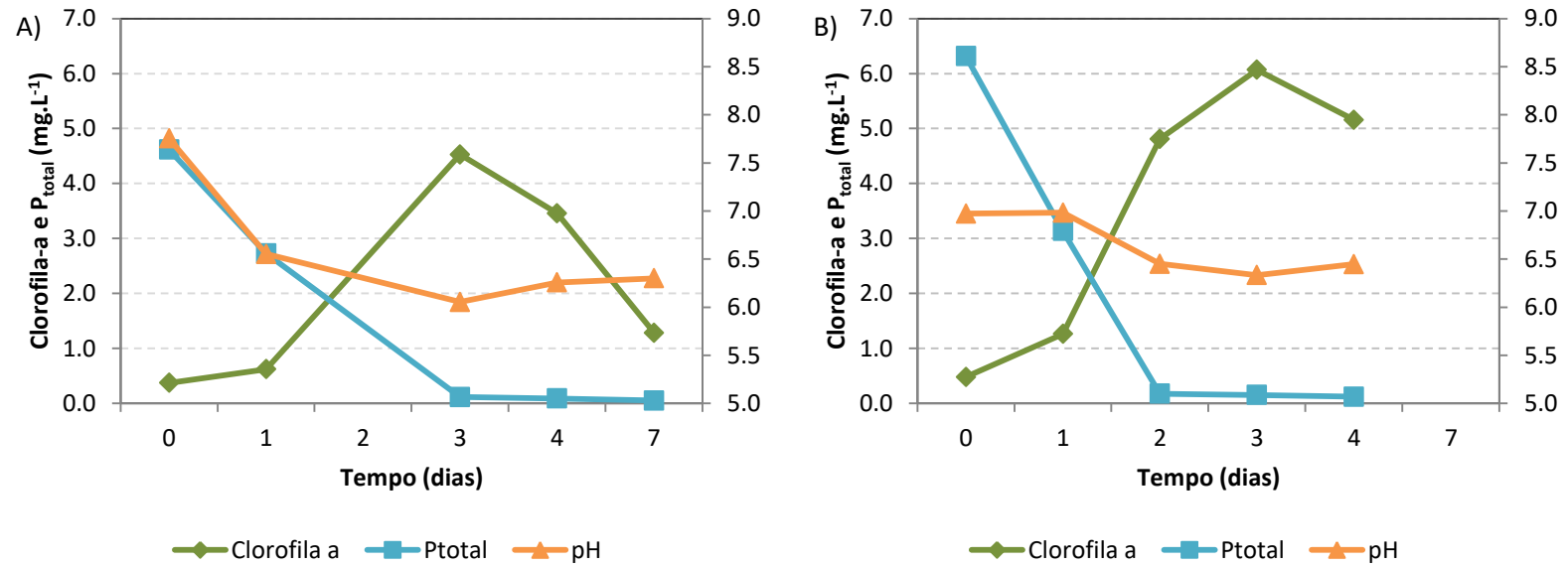
Tabela 37 – Valores iniciais e finais de DQO para a Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.

	DQO (mg.L ⁻¹)		Taxa de remoção de DQO (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)
Experimento	Inicial	Final	
Etapa 1:			
2 (5% CO ₂)	222,0±106,1	168,7±16,5	13,3
Etapa 2:			
4 (LED-média)	175,9±19,0	101,4±8,4	18,6
Etapa 3:			
6 (TEMP)	245,9± 5,1	78,1± 10,7	41,9

No experimento com variação de temperatura executado por *Delgadillo-Mirquez et al.* (2016), os autores associam a remoção de fosfato, com o acúmulo na biomassa e com adsorção na superfície celular, como principais mecanismos de remoção de fósforo do meio. Além disso, constata-se uma desaceleração no crescimento da cultura com a diminuição da concentração do nutriente. Segundo os autores, a remoção de fosfato ocorre principalmente pelos mecanismos de adsorção na superfície das células, de assimilação pela biomassa e por precipitação química.

Considerando o aumento da temperatura do Experimento 6 (TEMP) em relação à melhor condição da Etapa 2, no Experimento 4 (LED-média), há uma maior concentração de clorofila *a*, conforme discutido no item 5.3.3. Na Figura 30, estão apresentados os valores de pH e de fósforo total em solução, juntamente com os valores de clorofila *a*.

Figura 30 – Perfil de pH, fósforo total e clorofila *a* para os experimentos A) LED-média – Etapa 2 a 25 °C e B) TEMP –Etapa 3 a 38 °C.



Ao analisarmos a Figura 30, é possível perceber que o aumento da temperatura favoreceu a remoção de fósforo, principalmente na redução da concentração entre os dias 1 e 3, bem como o aumento da concentração de clorofila *a*, conforme previsto por Delgadillo-Mirquez *et al.* (2016). Em ambos os casos, é importante destacar a relação baixa disponibilidade de fósforo e diminuição das taxas de crescimento, conforme discutido nos itens 5.2.3 e 5.3.3.

5.3.5 Remoção de Metais Pesados

Os valores iniciais e finais dos metais em solução para os dois experimentos da Etapa 2 e para a melhor condição da Etapa 1 estão apresentados na Tabela 38.

Tabela 38 – Valores iniciais e finais de metais em solução para os experimentos da Etapa 1.

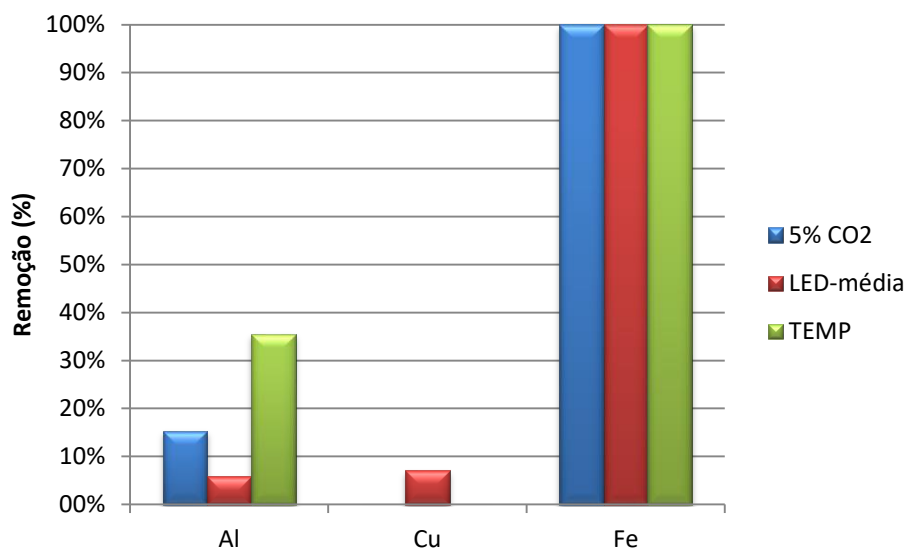
Metais (mg.L ⁻¹)		Al (VMP 0,1mg.L ⁻¹)	Cu (VMP 0,009mg.L ⁻¹)	Fe (VMP 0,3mg.L ⁻¹)
Etapa 1:				
5% CO ₂	t ₀	0,150±0,067	0,002±0,000	0,068±0,002
	t _f	0,081±0,010	0,002±0,001	ND
Etapa 2:				
LED- média	t ₀	0,309±0,008	0,008±0,003	0,077±0,000
	t _f	0,291±0,027	0,007±0,002	ND
Etapa 3:				
TEMP	t ₀	0,225±0,071	0,005±0,001	0,130±0,168
	t _f	0,145±0,066	0,005±0,006	ND

Abreviaturas: VMP – Valor Máximo Permitido (CONAMA, 2005); ND – não detectado;

t₀ – tempo inicial; t_f – tempo final.

As porcentagens de remoção dos metais em solução obtidos na Etapa 3 estão apresentados na Figura 31, bem como as melhores condições das Etapas 1 e 2.

Figura 31 – Valores de porcentagem de remoção de Al, Cu e Fe para o experimento da Etapa 3 e as melhores condições das Etapas 1 e 2.



A remoção em massa de ferro no Experimento 6 (TEMP) aumentou em relação aos Experimentos 2 (5% de CO₂) e 4 (LED-média), pois a concentração inicial também foi maior (0,130 mg.L⁻¹), conforme Tabela 38. Não obstante é importante destacar que os valores iniciais obtidos nesses experimentos já eram inferiores ao limite máximo permitido (CONAMA, 2005). A concentração final de alumínio para os Experimentos 4 (LED-média) e 6 (TEMP) permaneceram acima do valor máximo permitido, portanto o uso dessa comunidade mista nativa de microalgas e bactérias nas condições do experimento não se mostrou como um tratamento adequado para remoção desse metal.

5.3.6 *Considerações Etapa 3*

O aumento da temperatura teve pouco impacto nos valores de pH, causando apenas um pequeno crescimento nos valores obtidos no Experimento 6 (TEMP) em relação aos valores obtidos no Experimento 4 (LED-média), ambos com a mesma intensidade luminosa e com ar comprimido enriquecido com 5% de CO₂ conforme discutido no item 5.3.1.

A variação da densidade óptica foi maior, nos três comprimentos de onda analisados (530 nm, 680 nm e 750 nm), com o aumento da temperatura. Já para o caso da produção de biomassa na forma de sólidos em suspensão totais (SST), é importante lembrar que a duração do Experimento 6 (TEMP) foi de quatro dias, uma vez que, no

sétimo dia, a cultura estava amarelada devido à baixa disponibilidade de nutrientes. Portanto, para uma comparação equivalente de SST, consideramos o quarto dia, sendo que o Experimento 04 (LED-média) obteve $1,19 \pm 0,09 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para o quarto dia, e o Experimento 06 (TEMP) obteve $1,27 \pm 0,08 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, tornando evidente que a elevação da temperatura aumentou a produção de biomassa.

A variação de temperatura tem considerável impacto na remoção de nutrientes de culturas mistas. Os resultados relatados na literatura apontam que as algas podem promover alterações nas taxas de remoção de nutrientes pelas bactérias (nitrificação, desnitrificação e acúmulo de polifosfato), e as bactérias podem interferir nas taxas de crescimento das microalgas, alterando, portanto, a sua assimilação de nutrientes (FALLAHI *et al.*, 2021).

Para a Etapa 3, as altas taxas de remoção de nitrogênio estão associadas principalmente a assimilação, nitrificação e desnitrificação por se tratar de uma cultura mista. Já o processo de volatilização da amônia tem baixo impacto dado o pH médio inferior a 8,0 em todas as etapas (LIU *et al.*, 2017a). O efeito tamponador da adição de CO_2 reduz a volatilização da amônia, a precipitação do fósforo e promove um aumento da produção de algas, gerando mais biomassa e também podendo melhorar a remoção de nutrientes (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011).

Os bons resultados na redução do fósforo total no efluente são importantes para diminuir a eutrofização em corpos hídricos, dado que o fósforo é o nutriente limitante para a taxa de crescimento na maioria dos fitoplânctons (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

O aumento da temperatura também induziu a um aumento na concentração de clorofila *a* nas células das microalgas para uma mesma intensidade luminosa (comparação entre as Etapas 2 e 3), de modo que o maior valor de clorofila *a* obtido no Experimento 4 (LED-média) foi de $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e no Experimento 06 (TEMP) foi de $6,1 \text{ mg.L}^{-1}$. Contudo o efeito da temperatura na fotoinibição ainda não foi amplamente modelado, podendo ser superestimado em alguns casos (DARVEHEI; BAHRI; MOHEIMANI, 2018).

O cultivo de microalgas em baixas temperaturas deve ser realizado também com intensidades luminosas menores para minimizar a fotoinibição e também reduzir o consumo de energia, tornando a operação mais sustentável, além de outras vantagens de temperaturas mais baixas, como maior solubilidade do oxigênio e menores taxas de crescimento dos microrganismos concorrentes (MOHSENPOUR *et al.*, 2021).

Os principais parâmetros obtidos na Etapa 3, comparados com as melhores condições das Etapas 1 (5% CO_2) e 2 (LED-média), estão apresentados na Tabela 39.

Tabela 39 – Principais parâmetros obtidos para os experimentos da Etapa 3 e melhores condições das Etapas 1 e 2.

	ETAPA 1	ETAPA 2	ETAPA 3
Parâmetro	Experimento 2 (5% CO ₂)	Experimento 4 (LED-média)	Experimento 6 (TEMP)
pH (final)	6,28±0,04	6,30±0,05	6,45±0,06
Densidade óptica - 680 nm (final)	1,65±0,02	2,29±0,01	2,56±0,05
Densidade óptica - 750 nm (final)	1,09±0,01	1,79±0,04	1,60±0,02
Taxa de produção de SST (g.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,07	0,22	0,29
Taxa de crescimento global (d ⁻¹) *	0,59±0,06	1,38±0,08	1,50±0,10
Taxa de remoção de N _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	7,42	11,10	22,80
Taxa de remoção de P _{total} (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹) *	0,92	1,50	3,07
N:P *	31:1	12:1	11:1

Legenda: * considerando o final do experimento quando a remoção de P_{total} atingiu 95%.

5.4 Balanço de massa

O balanço de massa é uma descrição quantitativa baseada na Lei de Conservação de Massa e define que, no estado de equilíbrio para um volume escolhido, a quantidade de um material acumulado deve ser igual à quantidade deste material que entra, menos a quantidade que sai, mais a quantidade gerada, menos a quantidade que é consumida (VON SPERLING, 2007).

O balanço de massa foi realizado para o fósforo por este elemento ser considerado conservativo, ou seja, o fósforo total do início das bateladas, é teoricamente contável dentro das partições do sistema (BREEN, 1990).

O mesmo não foi realizado para o nitrogênio, pois a amônia pode estar presente tanto na forma ionizada (NH₄⁺) como não ionizada (NH₃), sendo sua concentração influenciada pelo pH e pela temperatura (ZIMMO; VAN DER STEEN; GIJZEN, 2004). O

NH_3 é um composto volátil, e o aumento do pH – resultado da atividade fotossintética – potencializa esta volatilização da amônia (ZIMMO; VAN DER STEEN; GIJZEN, 2004), conforme discutido nos itens 5.2.4 e 5.3.4.

No estudo realizado por Lee *et al.* (2015), os autores afirmam que a remoção de fósforo total pode refletir indiretamente a quantidade de fósforo assimilado na biomassa. Através da elaboração do balanço de massa do fósforo total e da análise detalhada do que ocorre em cada uma das 3 etapas deste estudo, foi possível estimar a quantidade de fósforo presente na biomassa, com base no perfil de remoção pela comunidade mista de microalgas e bactérias, e a Figura 32 apresenta esquematicamente esse processo.

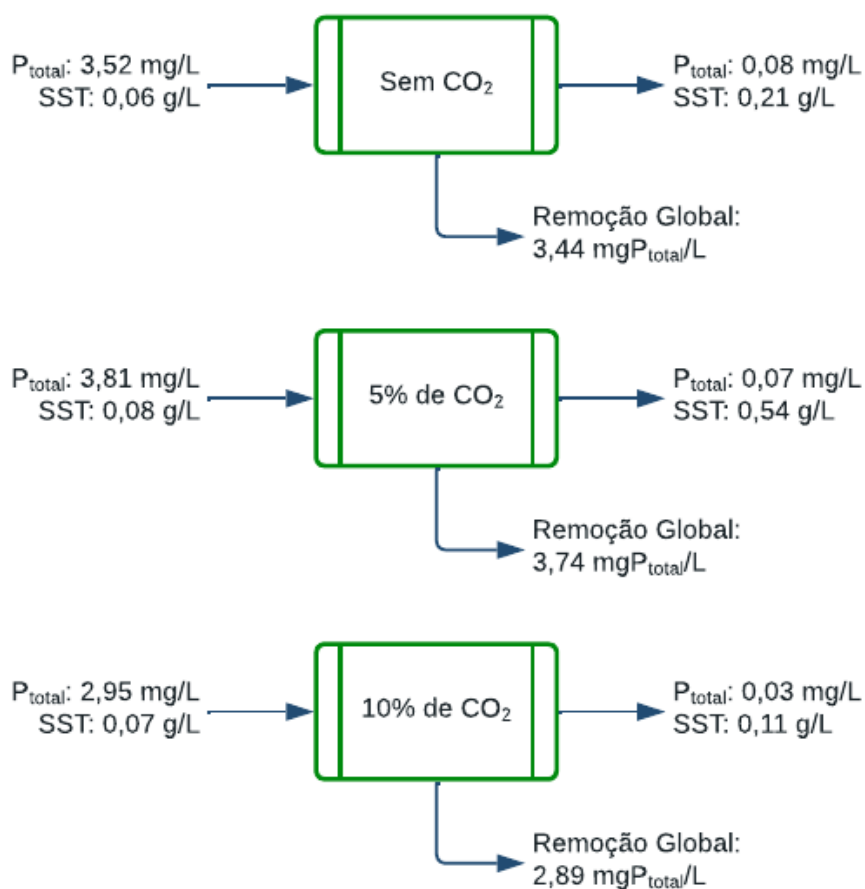
Figura 32 – Ilustração esquemática do balanço de massa para o fósforo total em solução.



5.4.1 **Balanço de massa Etapa 1**

Os balanços de massa para os três experimentos da Etapa 1 são apresentados a seguir.

Figura 33 – Balanços de massa dos experimentos da Etapa 1.



Na Figura 33, as correntes de entrada, estão os valores de fósforo total em solução presente no efluente usado no início de cada batelada e os valores dos sólidos totais em suspensão que são os oriundos do próprio efluente, além do inóculo da comunidade mista nativa de microalgas e bactérias. Nas correntes de saída, estão os valores de fósforo total em solução remanescentes no efluente tratado e o valor de sólidos em suspensão total após a realização da batelada de cada um dos experimentos da Etapa 1.

A taxa de remoção do fósforo pode ser associada ao crescimento da comunidade mista nativa. Portanto, é possível correlacionar o aumento da biomassa representada pelo valor de sólidos totais em suspensão com o valor do fósforo total removido para os três experimentos, conforme valores apresentados na Tabela 40.

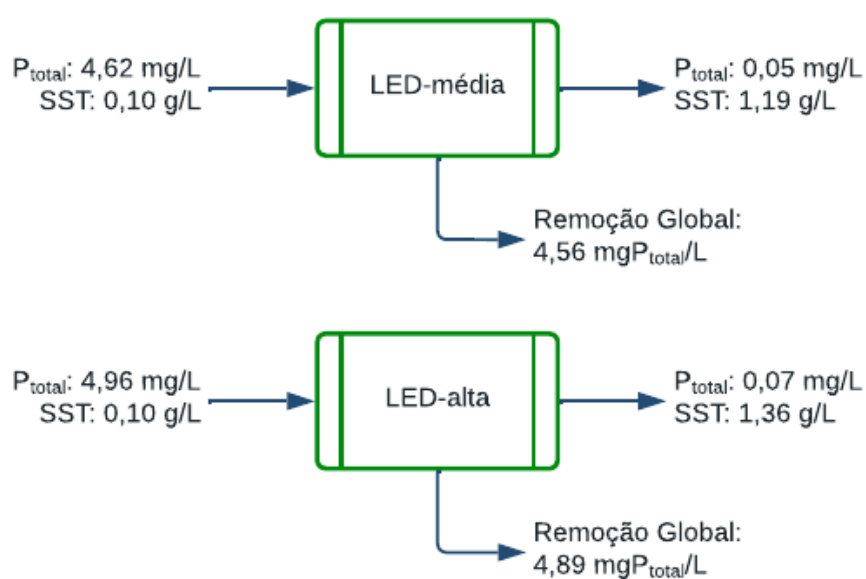
Tabela 40 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.

Experimento	Relação Biomassa produzida por P_{total} removido (mg SST/mg P)
1 (Sem CO ₂)	44,07
2 (5% de CO ₂)	121,84
3 (10% de CO ₂)	12,18

O Experimento 2 (5% de CO₂), como já discutido no item 5.1, apresentou a maior produção de biomassa e atingiu a remoção de fósforo de 95% em um intervalo de tempo menor e, consequentemente, maior relação de biomassa por fósforo removido.

5.4.2 *Balanco de massa Etapa 2*

A Figura 34 apresenta as correntes de entrada e saída, com balanço de massa para o fósforo, referente aos dois experimentos da Etapa 2.

Figura 34 – Balanços de massa dos experimentos da Etapa 2.

Na Tabela 41, estão os valores das correlações entre o aumento da biomassa e o fósforo total removido para os 2 experimentos da Etapa 2 e a melhor situação da Etapa 1.

Tabela 41 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.

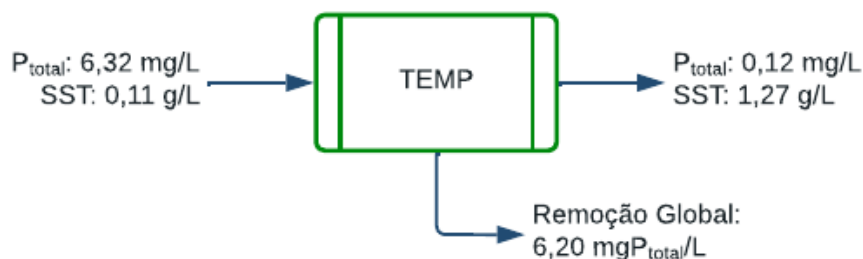
Experimento	Relação Biomassa produzida por P_{total} removido (mg SST/mg P)
2 (5% de CO_2)	121,84
4 (LED-média)	239,17
5 (LED-alta)	257,39

O aumento da produção de biomassa associado ao aumento da intensidade luminosa, até um determinado limite (DELGADILLO-MIRQUEZ *et al.*, 2016; LEE; LEI, 2019a; LI *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2019), também se reflete nos maiores valores da relação com a remoção de fósforo. Além desse aumento, os experimentos com maior intensidade luminosa atingiram a remoção de 95% em um menor tempo.

5.4.3 **Balanco de massa Etapa 3**

Na Etapa 3, o impacto do aumento da temperatura foi avaliado, e a Figura 35 apresenta as correntes de entrada e saída e balanço de massa para o fósforo total.

Figura 35 – Balanço de massa do experimento da Etapa 3.



Na Tabela 42, estão os valores das correlações entre o aumento da biomassa e o fósforo total, removido para o experimento da Etapa 03, e as melhores situações das Etapas 1 e 2.

Tabela 42 – Correlação entre a produção de biomassa e a remoção de fósforo.

Experimento	Relação Biomassa produzida por P_{total} removido (mg SST/mg P)
2 (5% de CO_2)	121,84
4 (LED-média)	239,17
6 (TEMP)	187,02

O aumento da temperatura não impactou positivamente a relação de produção de biomassa em relação à remoção de fósforo total, como a intensidade luminosa, sendo o melhor resultado obtido no Experimento 04 (LED-média), o que confirmou o previsto pela literatura: o aumento da intensidade luminosa levou às melhores taxas de remoção de nutrientes (GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1 Principal

Com base nos resultados obtidos nas três etapas, é possível concluir que a cultura mista nativa de microalgas e bactérias apresenta excelentes resultados de remoção de nutrientes em efluente anaeróbio, podendo ser uma alternativa para pós-tratamento. Já os resultados de remoção de metais não atenderam à legislação vigente (CONAMA, 2005) para águas doces classe 1, com destaque negativo para o desempenho na remoção de alumínio. Portanto, a comunidade usada na presente pesquisa não se mostrou uma alternativa viável nas condições em que o experimento foi realizado.

6.2 Específicas

Dentre os parâmetros variados, o acréscimo de CO₂ apresenta um impacto fundamental no desenvolvimento das microalgas, com destaque para o aumento da produção de biomassa, porém pode representar um custo adicional no caso de uma operação em escala real. Já a intensidade luminosa demonstrou um impacto positivo tanto na remoção de nutrientes como na produção de biomassa, condição bastante favorável para aplicações no Brasil, dadas as características de luminosidade e fotoperíodo. De forma análoga à intensidade luminosa, o aumento da temperatura também se mostrou favorável para a cultura mista nativa usada no estudo.

Assim, podemos inferir que a cultura mista nativa de microalgas e bactérias do efluente anaeróbio, apresenta bons resultados de remoção de nutrientes, boa tolerância às variações de temperatura e intensidade luminosa.

Já para o caso de remoção de metais, nas condições do experimento, a cultura não se mostrou eficiente na remoção de alumínio, de modo que o aumento da intensidade

luminosa e o aumento da temperatura não contribuíram de forma eficiente para que a concentração obtida no efluente final atendesse à Resolução CONAMA (2005) para águas doces de classe 1. A cultura mista nativa de microalgas e bactérias apresentou capacidade de remoção de ferro. Entretanto o Experimento 5 (LED-alta) merece especial destaque, pois nele a concentração inicial foi de $0,865 \pm 0,005 \text{ mg.L}^{-1}$ e o valor final de $0,261 \pm 0,008 \text{ mg.L}^{-1}$, muito próximo do valor máximo permitido de $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$, demonstrando que concentrações de ferro iniciais acima de $0,8 \text{ mg.L}^{-1}$, nas condições do experimento, podem conduzir ao não atendimento da legislação vigente no efluente final.

6.3 Recomendações

Os resultados obtidos na concretização deste trabalho permitem a sugestão de realização de trabalhos futuros. Pesquisas buscando, por exemplo, a identificação das espécies presentes na comunidade mista nativa de microalgas e bactérias, o que pode possibilitar um melhor entendimento dos mecanismos funcionais entre as espécies presentes na comunidade mista nativa e a correlação entre os aspectos biológicos e os parâmetros operacionais com foco na remoção de nutrientes.

Os bons resultados em escala laboratorial indicam que há possibilidade de sucesso no uso dessa comunidade para experimentos em escala piloto e implementação em associação com as operações unitárias da estação de tratamento de efluentes.

É importante a realização da análise da biomassa, principalmente em relação à concentração de alumínio, para realização do balanço de massa real, confirmando as remoções discutidas nos itens 5.1.5 e 5.4 para o caso do fósforo.

A biomassa produzida também pode ser usada para estudos futuros como substrato para produtos de interesse biotecnológicos com vistas ao uso na agricultura ou produção de biocombustíveis, dependendo da acumulação de lipídios, que deve ser avaliada.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, jul. 2012.
- ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. Tanques sépticos - NBR 9648: Estudo de concepção de sistemas de esgoto sanitário. 1986. Procedimento, publicada em 30/11/1986.
- AKPOR, O. B. Heavy Metal Pollutants in Wastewater Effluents: Sources, Effects and Remediation. **Advances in Bioscience and Bioengineering**, v. 2, n. 4, p. 37, 2014.
- ALCÁNTARA, C. et al. Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 5, p. 2393–2404, 2015.
- ANA. Atlas esgotos: atualização da base de dados de estações de tratamento de esgotos no Brasil. Brasília: Agência Nacional de Águas, 2020b. Disponível em: <<http://atlasesgotos.ana.gov.br/>>. Acesso em: 13 dez. 2021.
- ANDRADE, M. D. R.; CAMERINI, F. V.; COSTA, J. A. V. Perda química de carbono e cinética do crescimento celular em cultivos de *Spirulina*. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2031–2034, 2008.
- ASLAN, S.; KAPDAN, I. K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**, v. 28, n. 1, p. 64–70, 2006.
- BALINTOVA, M.; PETRILAKOVA, A. Study of pH influence on selective precipitation of heavy metals from acid mine drainage. **Chemical Engineering Transactions**, v. 25, p. 345–350, 2011.
- BARBOSA, M. J.; ALBRECHT, M.; WIJFFELS, H. Hydrodynamic Stress and Lethal Events in Sparged Microalgae Cultures. 2003.
- BARQUILHA, C. E. R. et al. Biosorption of nickel(II) and copper(II) ions in batch and fixed-bed columns by free and immobilized marine algae *Sargassum* sp. **Journal of**

Cleaner Production, v. 150, p. 58–64, 1 maio 2017.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*.

Second Editioned. United Kingdom: CRC Press, 2014. 2014. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1529-8817.2007.00335.x>. Acesso em: 11 maio 2022.

BELTRÁN-ROCHA, J. C. et al. Polishing of municipal secondary effluent using native microalgae consortia. **Water Science and Technology**, v. 75, n. 7, p. 1693–1701, 2017.

BERNARD, O.; RÉMOND, B. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. **Bioresource Technology**, v. 123, p. 520–527, 2012.

BRAGA, A. F. M. et al. Metal fractionation in sludge from sewage UASB treatment.

Journal of Environmental Management, v. 193, p. 98–107, 2017.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L.; MIERZWA, J.C.; BARROS, M.T.L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. Introdução à Engenharia Ambiental. 2.ed., Prentice Hall, São Paulo, 2005. 318p. BRASIL

BREEN, P. F. A mass balance method for assessing the potential of artificial wetlands for wastewater treatment. **Water Research**, v. 24, n. 6, p. 689–697, 1990.

BRIFFA, J.; SINAGRA, E.; BLUNDELL, R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. **Heliyon**, v. 6, n. 9, p. e04691, 2020.

BURAKOV, A. E. et al. Adsorption of heavy metals on conventional and nanostructured materials for wastewater treatment purposes: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, n. August 2017, p. 702–712, 2018.

BUX, F.; CHISTI, Y. Algae biotechnology. Products and processes. **Green Energy and Technology**, n. March, p. 344, 2016.

CABANELAS, I. T. D. et al. Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 429–436, 2013.

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

CAMPOS, J. C. et al. Evaluation of pH, alkalinity and temperature during air stripping process for ammonia removal from landfill leachate. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 48, n. 9, p. 1105–1113, 2013.

- CHIA, S. R. et al. CO₂ mitigation and phycoremediation of industrial flue gas and wastewater via microalgae-bacteria consortium: Possibilities and challenges. **Chemical Engineering Journal**, v. 425, n. July, p. 131436, 2021.
- CHO, D. H. et al. Microalgal diversity fosters stable biomass productivity in open ponds treating wastewater. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.
- CHONG, C. C. et al. Anaerobic digestate as a low-cost nutrient source for sustainable microalgae cultivation: A way forward through waste valorization approach. **Science of the Total Environment**, v. 803, p. 150070, 2022.
- CHOUDHARY, P.; PRAJAPATI, S. K.; MALIK, A. Screening native microalgal consortia for biomass production and nutrient removal from rural wastewaters for bioenergy applications. *Ecological Engineering*, [s. l.], v. 91, p. 221–230, 2016.
- DARVEHEI, P.; BAHRI, P. A.; MOHEIMANI, N. R. **Model development for the growth of microalgae: A review** *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Elsevier Ltd, , 1 dez. 2018. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1364032118306129>>
- DE-BASHAN, L. E. et al. Microalgae growth-promoting bacteria as “helpers” for microalgae: A novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater. **Water Research**, v. 38, n. 2, p. 466–474, 2004.
- DE WILT, A. et al. Micropollutant removal in an algal treatment system fed with source separated wastewater streams. **Journal of Hazardous Materials**, v. 304, p. 84–92, 2016.
- DELGADILLO-MIRQUEZ, L. et al. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. **Biotechnology Reports**, v. 11, p. 18–26, 2016.
- DESMIDT, E. et al. Global phosphorus scarcity and full-scale P-recovery techniques: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 4, p. 336–384, 2015.
- EL WALI, M.; GOLROUDBARY, S. R.; KRASLAWSKI, A. Circular economy for phosphorus supply chain and its impact on social sustainable development goals. **Science of the Total Environment**, v. 777, p. 146060, 2021.
- ESREY, S. A. et al. **Ecological sanitation for food security**. [s.l.: s.n.].
- FALLAHI, A. et al. Cultivation of mixed microalgae using municipal wastewater: Biomass productivity, nutrient removal, and biochemical content. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 18, n. 4, p. 88–97, out. 2020.
- FALLAHI, A. et al. Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from

wastewater: A review. **Chemosphere**, v. 272, p. 129878, 2021.

FERNANDES, T. V. et al. Toward an ecologically optimized N:P Recovery from wastewater by microalgae. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. SEP, p. 1–6, 2017.

FOLADORI, P.; PETRINI, S.; ANDREOTTOLA, G. Evolution of real municipal wastewater treatment in photobioreactors and microalgae-bacteria consortia using real-time parameters. **Chemical Engineering Journal**, v. 345, n. April, p. 507–516, 2018.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407–418, 2011.

GARCEZ, L. N. **Manual de Procedimentos e Técnicas Laboratoriais Voltado para Análises de Águas e Esgotos Sanitário e Industrial**. São Paulo: Escola Politécnica da Universidade de São Pulo: [s.n.]. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/3031799-Manual-de-procedimentos-e-tecnicas-laboratoriais-voltado-para-analises-de-aguas-e-esgotos-sanitario-e-industrial.html>>. Acesso em: 10 dez. 2021.

GENTILI, F. G.; FICK, J. Algal cultivation in urban wastewater: an efficient way to reduce pharmaceutical pollutants. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 1, p. 255–262, 3 fev. 2017.

GODOS, I. DE et al. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5150–5158, 2010.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403–415, 2017.

GRIFFITHS, M. J. et al. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, n. 2, p. 119–123, 2011.

GUILLARD, R. R. L. Methods for microflagellates and nanoplankton. In: STEIN, J. (Ed.), *Handbook of Phycological Methods*. Cambridge University Press: Cambridge, pp. 80–81, 1973

GULDHE, A. et al. Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 299–315, 2017.

GURBUZ, F. et al. Microbial detoxification of cyanide solutions: a new biotechnological approach using algae. **Hydrometallurgy**, v. 72, n. 1, p. 167–176, 2004.

GURBUZ, F.; CIFTCI, H.; AKCIL, A. Biodegradation of cyanide containing effluents by

- Scenedesmus obliquus. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 1, p. 74–79, 2009.
- HE, P. J. et al. The combined effect of bacteria and Chlorella vulgaris on the treatment of municipal wastewaters. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 562–568, 1 out. 2013.
- HUSSAIN, F. et al. Microalgae an ecofriendly and sustainable wastewater treatment option: Biomass application in biofuel and bio-fertilizer production. A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 137, p. 110603, 2021.
- JORDÃO, E.P. Tratamento de esgotos domésticos. 3.ed., Rio de Janeiro, ABES, 1995.
- KAYA, V. M. et al. Effect of intermittent CO₂ enrichment during nutrient starvation on tertiary treatment of wastewater by alginate-immobilized Scenedesmus bicellularis. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 18, n. 8, p. 550–554, 1996.
- KLIPHUIS, A. M. J. J. et al. Photosynthetic efficiency of Chlorella sorokiniana in a turbulently mixed short light-path photobioreactor. **Biotechnology Progress**, v. 26, n. 3, p. 687–696, fev. 2010.
- KOMOLAFE, O. et al. Biodiesel production from indigenous microalgae grown in wastewater. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 297–304, 2014.
- KUBE, M. et al. The impact of wastewater characteristics, algal species selection and immobilisation on simultaneous nitrogen and phosphorus removal. **Algal Research**, v. 31, p. 478–488, 1 abr. 2018.
- LEE, C. S. et al. Effects of photoperiod on nutrient removal, biomass production, and algal-bacterial population dynamics in lab-scale photobioreactors treating municipal wastewater. **Water Research**, v. 68, p. 680–691, 1 jan. 2015.
- LEE, Y.-J. J.; LEI, Z. Microalgal-bacterial aggregates for wastewater treatment: A mini-review. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, n. April, p. 100199, 2019a.
- LEE, Y.; LEI, Z. Bioresource Technology Reports Microalgal-bacterial aggregates for wastewater treatment : A mini-review. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, n. April, p. 100199, 2019b.
- LEITE, L. DE S.; HOFFMANN, M. T.; DANIEL, L. A. Microalgae cultivation for municipal and piggery wastewater treatment in Brazil. **Journal of Water Process Engineering**, v. 31, p. 100821, 1 out. 2019.
- LEONG, Y. K.; CHANG, J. S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 303, n. January, p. 122886, 2020.
- LETTINGA, G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, n. 3, p. 3–28, 1995.
- LI, K. et al. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review.

Bioresource Technology, v. 291, n. June, p. 121934, 2019.

LI, Y. et al. Effect of light intensity on algal biomass accumulation and biodiesel production for mixotrophic strains *Chlorella kessleri* and *Chlorella protothecoide* cultivated in highly concentrated municipal wastewater. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 9, p. 2222–2229, 2012.

LIU, J. et al. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1127–1137, 2017a.

LIU, J.; SONG, Y.; QIU, W. Oleaginous microalgae *Nannochloropsis* as a new model for biofuel production: Review & analysis. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 154–162, 2017.

LIU, L. et al. Bioresource Technology Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 64–71, 2017b.

LIU, X. et al. Growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide. **Chemosphere**, v. 186, p. 977–985, 2017c.

LIU, Z. et al. Characteristics and applications of biochars derived from wastewater solids. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 90, p. 650–664, 1 jul. 2018.

LU, C. Russia's Invasion Unleashes 'Perfect Storm' in Global Agriculture: Curtailed harvests and scarcer fertilizer all but promise hunger and hardship for tens of millions. **FP Insider**, 2022. Disponível em: <<https://foreignpolicy.com/2022/03/24/russia-war-ukraine-foodcrisis-wheat-fertilizer/>>. Acesso em: 30 maio de 2022.

MANZOOR, M. et al. Microalgal-bacterial consortium: A cost-effective approach of wastewater treatment in Pakistan. **Punjab University Journal of Zoology**, v. 31, n. 2, p. 307–320, 2016.

MAYHEAD, E. et al. Comparing nutrient removal from membrane filtered and unfiltered domestic wastewater using *Chlorella vulgaris*. **Biology**, v. 7, n. 1, 2018.

METCALF, L.; EDDY, H. P. **Wastewater engineering : treatment, disposal, and reuse**. 4th ed. ed. New York, NJ: McGraw-Hill: George Tchobanoglous, Franklin L. Burton, H. David Stensel, 2003.

MEW, M. C. Phosphate rock costs, prices and resources interaction. **The Science of the total environment**, v. 542, n. Pt B, p. 1008–1012, jan. 2016.

MILLER, J.C.; MILLER, J.N. *Statistic for analytical chemistry*, 3rd edition, p. 233, Ellis Horwood PTR Printice Hall, 1993.

MOHSENPOUR, S. F. et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review.

- Science of the Total Environment**, v. 752, n. September 2020, p. 142168, 2021.
- MORENO-GARCÍA, A. F.; NERI-TORRES, E. E.; MENA-CERVANTES, V. Y.; ALTAMIRANO, R. H.; PINEDA-FLORES, G.; LUNA-SÁNCHEZ, R.; GARCÍASOLARES, M.; VAZQUEZ-ARENAS, J.; SUASTES-RIVAS, J. K. Sustainable biorefinery associated with wastewater treatment of Cr (III) using a native microalgae consortium. *Fuel*, [s. l.], v. 290, p. 119040, 2021
- MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, n. 15, p. 2799–2815, ago. 2006.
- MUSTAFA, S. et al. Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities. **Journal of Water Process Engineering**, v. 41, p. 102009, 2021.
- NAYAK, M.; KAREMORE, A.; SEN, R. Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. **Algal Research**, v. 16, p. 216–223, 1 jun. 2016.
- OLGUÍN, E. J. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 5, p. 1031–1046, 2012.
- PADMAPERUMA, G. et al. Microbial consortia: a critical look at microalgae co-cultures for enhanced biomanufacturing. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 5, p. 690–703, 2018.
- PAHL, S. L. et al. Harvesting, Thickening and Dewatering Microalgae Biomass BT - Algae for Biofuels and Energy. In: BOROWITZKA, M. A.; MOHEIMANI, N. R. (Eds.). . Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. p. 165–185.
- PAL, A. et al. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. **Environment International**, v. 71, p. 46–62, 2014.
- PANTANO, G. et al. Sustainability in phosphorus use: A question of water and food security. **Quimica Nova**, v. 39, n. 6, p. 732–740, 2016.
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Algal production in wastewater treatment high rate algal ponds for potential biofuel use. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 10, p. 2403–2410, 2011.
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 35–42, 1 jan. 2011.

- PENG, F. Q. et al. Biotransformation of progesterone and norgestrel by two freshwater microalgae (*Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*): Transformation kinetics and products identification. **Chemosphere**, v. 95, p. 581–588, 2014.
- PHAM, T.-L. et al. Lipid Production Combined with Removal and Bioaccumulation of Pb by *Scenedesmus* sp. Green Alga. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 29, n. 2, p. 1785–1791, 13 fev. 2020.
- PIPI, A. R. F. et al. Evaluation of metal removal efficiency and its influence in the physicochemical parameters at two sewage treatment plants. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 5, 2018.
- POSADAS, E. et al. Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal–bacterial biofilm bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 50–58, 1 jul. 2013.
- PROSAB. Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Ministério da Ciência e Tecnologia. FINEP, **ABES**, 2009.
- RAMANAN, R. et al. **Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications** *Biotechnology Advances* Elsevier, , 1 jan. 2016.
- RASHID, N.; PARK, W.-K. K.; SELVARATNAM, T. Binary culture of microalgae as an integrated approach for enhanced biomass and metabolites productivity, wastewater treatment, and bioflocculation. **Chemosphere**, v. 194, p. 67–75, 2018.
- REYNOLDS, C. S. **The Ecology of Phytoplankton**. [s.l.] Cambridge University Press, 2006.
- RUGNINI, L. et al. Phosphorus and metal removal combined with lipid production by the green microalga *Desmodesmus* sp.: An integrated approach. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 125, n. November 2017, p. 45–51, 2018.
- RYU, H. J.; OH, K. K.; KIM, Y. S. Optimization of the influential factors for the improvement of CO₂ utilization efficiency and CO₂ mass transfer rate. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 15, n. 4, p. 471–475, 25 jul. 2009.
- SCHMITT, D. et al. The adsorption kinetics of metal ions onto different microalgae and siliceous earth. **Water Research**, v. 35, n. 3, p. 779–785, 1 fev. 2001.
- SHARMA, R. et al. Recent advances in microalgae-based remediation of industrial and non-industrial wastewaters with simultaneous recovery of value-added products. **Bioresource Technology**, p. 126129, 2021.
- SILAMBARASAN, S. et al. Removal of nutrients from domestic wastewater by microalgae coupled to lipid augmentation for biodiesel production and influence of

deoiled algal biomass as biofertilizer for *Solanum lycopersicum* cultivation.

Chemosphere, v. 268, p. 129323, abr. 2021.

SILVA, J. A. DA et al. Evaluation of the influence of trace metals on methane production from domestic sewage, using the Plackett-Burman experimental design. **Journal of Environmental Management**, v. 294, n. December 2020, p. 113002, 2021.

SILVA, G. H. R. et al. Feasibility of closing nutrient cycles from black water by microalgae-based technology. **Algal Research**, v. 44, n. February, p. 101715, 2019.

SLOMPO, N. D. M. et al. Nutrient and pathogen removal from anaerobically treated black water by microalgae. **Journal of Environmental Management**, v. 268, p. 110693, 15 ago. 2020.

SU, Y.; MENNERICH, A.; URBAN, B. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture. **Water Research**, v. 45, n. 11, p. 3351–3358, 2011.

SU, Y.; MENNERICH, A.; URBAN, B. Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence of algae and sludge inoculation ratios. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 67–73, fev. 2012.

SUBASHCHANDRABOSE, S. R. et al. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 896–907, 2011.

SULEIMAN, A. K. A. et al. From toilet to agriculture: Fertilization with microalgal biomass from wastewater impacts the soil and rhizosphere active microbiomes, greenhouse gas emissions and plant growth. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 161, p. 104924, 2020.

SUTHERLAND, D. L. et al. The effects of CO₂ addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal. **Water Research**, v. 70, p. 9–26, 2015.

SUTHERLAND, D. L.; RALPH, P. J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. **Water Research**, v. 164, p. 114921, 2019.

VAN DEN HENDE, S. et al. Bioflocculation of microalgae and bacteria combined with flue gas to improve sewage treatment. **New Biotechnology**, v. 29, n. 1, p. 23–31, 15 dez. 2011.

VAN DER WIEL, B. Z. et al. Restoring nutrient circularity: A review of nutrient stock and flow analyses of local agro-food-waste systems. **Resources, Conservation & Recycling: X**, v. 3, n. August, p. 100014, out. 2019.

- VAN MINH, H.; HUNG, N. V. Economic Aspects of Sanitation in Developing Countries. **Environmental Health Insights**, v. 5, p. EHI.S8199, 1 jan. 2011.
- VASCONCELOS FERNANDES, T. et al. Closing Domestic Nutrient Cycles Using Microalgae. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 20, p. 12450–12456, 2015.
- VON SPERLING, M. **Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal**. 1. ed. London: IWA Publishing, 2007. v. 1
- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 1. ed, 1996. v. 1
- WALLS, L. E.; VELASQUEZ-ORTA, S. B.; ROMERO-FRASCA, E.; LEARY, P.; YÁÑEZ NOGUEZ, I.; ORTA LEDESMA, M. T. Non-sterile heterotrophic cultivation of native wastewater yeast and microalgae for integrated municipal wastewater treatment and bioethanol production. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 151, p. 107319, 2019.
- WANG, Y. et al. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 485–497, 2016.
- WHITTON, R. et al. Influence of microalgal N and P composition on wastewater nutrient remediation. **Water Research**, v. 91, p. 371–378, 2016.
- WITHERS, P. J. A. et al. Transitions to sustainable management of phosphorus in Brazilian agriculture. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2537, 2018.
- WHO, 2018. Guidelines on sanitation and health., World Health Organization - Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241514705>>. Acesso em: 13 dez. 2021.
- YOU, X. et al. Pollutants affect algae-bacteria interactions: A critical review. **Environmental Pollution**, v. 276, p. 116723, 2021.
- ZEEMAN, G. et al. Anaerobic treatment as a core technology for energy, nutrients and water recovery from source-separated domestic waste(water). **Water Science and Technology**, v. 57, n. 8, p. 1207–1212, 2008.
- ZHANG, B. et al. Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 118, p. 109563, 2020.
- ZHANG, C.; LI, S.; HO, S.-H. Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 342, p. 126056, 2021.
- ZHOU, W. et al. Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production. **Bioresource**

Technology, v. 102, n. 13, p. 6909–6919, 1 jul. 2011.

ZHOU, W. et al. Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters.

Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 36, p. 256–269, 1 ago. 2014.

ZIMMO, O. R.; VAN DER STEEN, N. P.; GIJZEN, H. J. Nitrogen mass balance across pilot-scale algae and duckweed-based wastewater stabilisation ponds. **Water Research**, v. 38, n. 4, p. 913–920, 1 fev. 2004.