



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Tecnologia e Ciência

Faculdade de Engenharia

Gabriele Araujo Corrêa da Rocha


**Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por
três espécies de microalgas em água mineral**

Rio de Janeiro

2021

Gabriele Araujo Corrêa da Rocha

**Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por três espécies
de microalgas em água mineral**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Saúde Ambiental e Trabalho.

Orientador: Prof. Dr. André Luís de Sá Salomão

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/B

R672 Rocha, Gabriele Araujo Corrêa da.
Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por
três espécies de microalgas em água mineral / Gabriele Araujo
Corrêa da Rocha. – 2021.
70f.

Orientador: André Luís de Sá Salomão.
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de
Janeiro, Faculdade de Engenharia.

1. Engenharia ambiental - Teses. 2. Águas residuais -
Purificação - Tratamento biológico - Teses. 3. Algas - Teses. I.
Salomão, André Luís de Sá. II. Universidade do Estado do Rio
de Janeiro, Faculdade de Engenharia. III. Título.

CDU 628.166

Bibliotecária: Júlia Vieira – CRB7/6022

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou
parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Gabriele Araujo Corrêa da Rocha

**Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por três espécies
de microalgas em água mineral**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Saúde Ambiental e Trabalho.

Aprovado em:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. André Luís de Sá Salomão
Faculdade de Engenharia - UERJ

Prof.^a Dr.^a Marcia Marques Gomes
Faculdade de Engenharia - UERJ

Dr.^a Rachel Ann Hauser-Davis
Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô Daniel, por ter me ensinado a importância do conhecimento e por ter me incentivado a aprender sempre mais, me explicando com toda paciência cada conteúdo. E à Babby, minha filha quatro patas, que esquentava os meus pés enquanto eu escrevia a minha dissertação e encheu minha vida de alegria, mas infelizmente virou estrelinha em 21/10/2021 e me deixou tanta saudade que o coração chega a doer.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me protegido quando eu achei que não fosse mais conseguir.

Ao amor da minha vida, David Argolo, pelo apoio, dedicação e por ter estado ao meu lado durante todo o processo.

Aos meus pais Cristina e Paulo e a minha irmã Aletheia pelo amor incondicional e por serem responsáveis por eu ter me tornado quem sou.

Agradeço também a todos os professores que me ensinaram e me apoiaram durante o curso, em especial ao meu querido orientador André Salomão, que tenho como um exemplo de pessoa e profissional, e que sem ele a realização deste trabalho não seria possível, e a Marcia Marques por ter me apresentado a Uerj e por todos os ensinamentos e conversas que tivemos sobre a vida e a arte de ser um pesquisador.

À toda a equipe do LABIFI, em especial a Beatriz, Grazielle, Priscila, Rodrigo e Thaís por todo o apoio na realização dos experimentos.

E a todos os amigos de vida e de turma por toda troca de experiências e aprendizado.

Todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao poder público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações.

Artigo 225 da Constituição Federal Brasileira

RESUMO

ROCHA, Gabriele A. C. da. **Ficorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos por três espécies de microalgas em água mineral**. 2021. 70f. Dissertação (Mestrado Profissional em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

A ficorremediação já foi reconhecida como uma abordagem alternativa e promissora para o tratamento de águas residuais e tem recebido atenção considerável nos últimos anos. A capacidade de remover contaminantes orgânicos e inorgânicos em águas residuais e de sobreviver sob condições ambientais extremas torna as microalgas excelentes candidatas para uso em uma etapa final de polimento de águas residuais. O objetivo deste estudo foi avaliar três espécies de microalgas fotossintéticas unicelulares (*Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata*) em monoculturas, quanto à capacidade de remoção e biotransformação de compostos orgânicos e inorgânicos, usualmente presentes em efluentes domésticos, para futuras aplicações como etapa de polimento em sistemas descentralizados de tratamento de águas residuais. As microalgas foram expostas à uma solução com 600 mg/L de DQO, 24 mg/L de nitrogênio total e 10 mg/L de fosfato, em água mineral em duas densidades populacionais iniciais (10^5 e 10^7 algas/mL), com aeração constante, temperatura de 23-27°C e fotoperíodo de 16: 8h (claro: escuro). Após 96h, foi observada produção de biomassa para as três espécies de microalgas, com aumento de 17,3 vezes na densidade de 10^5 algas/mL e 11,4 vezes na densidade inicial de 10^7 algas/mL, em comparação com dois controles estabelecidos com água mineral e meio de cultivo, que tiveram produção de biomassa de 2,0 e 8,7 vezes dos valores iniciais, respectivamente. A redução da DQO observada (superior a 78% em todos os ensaios) foi relacionada à densidade de algas, sendo maior nos bioensaios com 10^7 algas/mL. A maior remoção de nitrogênio (80% ou 19,1 mg/L) foi observada no bioensaio com *C. vulgaris* (10^7 algas/mL), enquanto *D. subspicatus* promoveu a maior remoção de fosfato (34% ou 3,8 mg/L). Contudo, considerando todos os bioensaios, as remoções de nitrogênio e fosfato alcançaram a máxima de 68% e a mínima de 21%, respectivamente. Esses resultados reforçaram o potencial do uso de microalgas como uma etapa de polimento em sistemas descentralizados de tratamento de águas residuais.

Palavras-chave: Ficorremediação. Densidade de microalgas. Biomassa de algas. Biotransformação. Tratamento de efluente terciário.

ABSTRACT

ROCHA, Gabriele A. C. da. **Phycoremediation of organic and inorganic compounds by three species of microalgae in mineral water**. 2021. 70f. Dissertação (Mestrado Profissional em Engenharia Ambiental) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Phycoremediation has already been recognized as an alternative and promising approach to wastewater treatment and has been receiving wastewater treatment in recent years. The ability to remove organic and inorganic contaminants in wastewater and under environmental conditions makes it as extreme excellent microalgae for use in a final step of wastewater polishing. The objective of this study was to evaluate three species of unicellular photosynthetic microalgae (*Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subcapitata* and *Raphidocelis subcapitata*) in monocultures, regarding their ability to remove and biotransform organic and inorganic organisms, usually in domestic effluents, for future applications as a polishing step. in decentralized wastewater treatment systems. The microalgae were exposed to a solution with 600 mg/L COD, 24 mg/L of total seaweed and 10 mg of water/L of phosphate, in mineral at two initial population densities (105 and 107/mL), with constant aeration, temperature of 23-27°C and photoperiod of 16: 8h (light: dark). After 96h, biomass production was observed as a comparison of microalgae, with a 17.3-fold increase in the density of 105 algae/mL and 11.4-fold increase in the initial density of 107 algae/mL, in two controls defined with mineral water and medium of cultivation, which had a biomass production of 2.0 and 8.7 times the initial values, respectively. The reduction in COD observed (greater than 78% in all assays) was related to the density of algae, being higher in bioassays with 107 algae/mL. The highest algae removal of phosphate¹ (80% or 91 mg/L) was observed in biophosphate107/mL), while *D. subspicatus* promoted the highest removal of 3.8 mg/EU). However, considering all bioassays, the removal of ideal and phosphate reached an average of 68% and 21%, respectively. results These are the potential for using microalgae as a polishing step in decentralized wastewater treatment systems.

Keywords: Phycoremediation. Microalgae density. Algae biomass. Biotransformation. Tertiary effluent treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microalgas da espécie <i>Chlorella vulgaris</i> em microscópio óptico (400x).....	34
Figura 2 - Microalgas da espécie <i>Desmodesmus subspicatus</i> em microscópio óptico (400x).....	35
Figura 3 - Microalgas da espécie <i>Raphidocelis subcapitata</i> em microscópio óptico (400x).....	35
Figura 4 -. Cultivo das espécies de microalgas em incubadora com fotoperíodo e temperatura controlada.....	35
Figura 5 – Pré-cultivo das microalgas <i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Desmodesmus subspicatus</i> e <i>Raphidocelis subcapitata</i>	36
Figura 6 – Câmara de Neubauer para contagem de células das microalgas (Adaptado de: www.casalab.com).....	37
Figura 7 – Desenho esquemático do ensaio de fitorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos com três espécies de microalgas.....	38
Figura 8 - Filtração em membrana de fibra de vidro para obtenção de biomassa seca de microalga após secagem em estufa.....	41
Figura 9 - Três tipos de controles (dois negativos e um de fotodegradação) para cada espécie de microalga.....	41
Figura 10 - Encerramento dos ensaios.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição geral de diferentes fontes alimentares humanas e alga (Adaptado de Spolaore et al, 2006).....	28
Tabela 2 - Condições de ensaio realizado com as microalgas <i>C. vulgaris</i> , <i>R. subcapitata</i> e <i>D. subspicatus</i>	39
Tabela 3 - Desenho experimental do ensaio de 96 h com três espécies de microalgas.....	40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Produção de biomassa de três espécies de microalgas em duas densidades de 10^5 algas/mL e 10^7 algas/ mL ao longo de 96 h.....	44
Gráfico 2 - Decaimento da concentração de nitrogênio total, ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas/mL.....	47
Gráfico 3 - Decaimento da concentração de fosfato, ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas /mL.....	50
Gráfico 4 - Concentração da Demanda Química de Oxigênio (DQO), ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas/mL.....	53

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1. OBJETIVOS	14
1.1. OBJETIVO GERAL.....	14
1.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Ficorremediação.....	15
2.1.1. Bioadsorção, bioabsorção e biodegradação.....	18
2.1.2. Vias metabólicas.....	19
2.2. Aplicação da ficorremediação.....	20
2.3. Produtos da ficorremediação.....	25
2.3.1. Biomassa.....	26
2.3.2. Fixação biológica.....	29
2.4. Espécies de microalgas utilizadas na ficorremediação.....	30
3. METODOLOGIA	34
3.1. Cultivo de microalgas.....	34
3.2. Preparo do inóculo para ensaio.....	36
3.3. Contagem das células algáceas em microscópio óptico.....	36
3.4. Ficorremediação em água mineral.....	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
4.1. Produção de biomassa de microalgas.....	43
4.2. Biodegradação de compostos inorgânicos.....	46
4.2.1. Remoção de nitrogênio total.....	46
4.2.2. Remoção de fosfato.....	49
4.3. Biodegradação de compostos orgânicos.....	52
5 CONCLUSÃO.....	55
6 RECOMENDAÇÕES FUTURAS.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

INTRODUÇÃO

O lançamento de esgoto doméstico não tratado em ambientes aquáticos ainda é um problema grave e crônico no Brasil, com impactos diretos na saúde humana e ambiental. De acordo com o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (ANA, 2017), cerca de 45% de todo esgoto gerado no país é lançado diretamente em corpos d'água.

O crescente lançamento de esgoto bruto em corpos hídricos receptores, contendo principalmente matéria orgânica (e micropoluentes associados) e nutrientes, pode afetar de diversas formas não só a saúde ambiental, mas também a saúde humana, tornando-se um assunto de interesse público.

Segundo DANESHVAR *et al.* (2018) as águas residuais de origem industriais e agrícolas podem conter metais, detergentes, antibióticos, pesticidas, além de nutrientes, carga orgânica e outros compostos contaminantes, que são potenciais causadores de impacto prejudicial na saúde dos seres humanos e de efeitos ecotoxicológicos sobre organismos aquáticos. Nitrogênio e fósforo são exemplos de nutrientes essenciais para o crescimento e manutenção da vida de microrganismos e plantas em geral, mas a sua presença excessiva em ambientes aquáticos pode causar a eutrofização dos corpos hídricos receptores (CHISLOCK, 2013)

A remoção e/ou a biotransformação de alguns poluentes ambientais podem ser realizadas por meio da fitorremediação, que representa uma abordagem biotecnológica para o tratamento de matrizes aquosas que utiliza algas e microalgas – geralmente fotossintéticas e unicelulares - para remoção e/ou biotransformação de substâncias que podem causar danos ao meio ambiente (HANUMANTHA RAO *et al.*, 2011). Além da biodegradação, as algas unicelulares possuem outros mecanismos de remoção, como a bioacumulação e bioadsorção (LIU, 2018).

Algumas espécies de microalgas verdes unicelulares, como *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata* vêm sendo usadas (separadamente ou em consórcios de espécies) em investigações de toxicidade, remoção e biodegradação de produtos farmacêuticos e outros compostos químicos, e até mesmo no tratamento de águas residuais

(DANESHVAR *et al.*, 2018; JI *et al.*, 2018a; LIU *et al.*, 2018; MAES *et al.*, 2014; SALOMÃO *et al.*, 2014; SHEN, GAO e LI, 2017).

As microalgas são muito empregadas no tratamento de águas residuais, devido à sua alta taxa de reprodução e alta tolerância a diferentes condições ambientais. Outra vantagem é que a biomassa de microalgas resultante dos processos de tratamento apresenta altos teores de lipídios e carboidratos que podem ser usados na produção de biocombustíveis ou ainda, podem ser aproveitados no setor industrial como bioprodutos de interesse comercial (KIM *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2016).

A microalga do gênero *Chlorella* sp. vem sendo amplamente utilizada no tratamento de águas residuais devido à sua alta capacidade de remover nitrogênio, fósforo e carga orgânica presentes nas águas residuárias (KIM *et al.*, 2016).

A fitorremediação ainda tem atraído interesse devido ao seu baixo custo de implementação, manutenção e operação (infraestrutura e consumo de energia), e devido à possibilidade de estabelecer consórcios com outros microrganismos, tais como bactérias, tornando o tratamento mais eficiente na remoção e biotransformação de nutrientes, matéria orgânica, fármacos e outros compostos químicos (JI *et al.*, 2018; SHEN, GAO e LI, 2017).

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral:

O objetivo principal foi avaliar monoculturas de três espécies de microalgas fotossintéticas unicelulares (*C. vulgaris*, *D. subspicatus* e *R. subcapitata*) quanto à capacidade de redução da DQO, nitrogênio e fósforo, usualmente presentes em efluentes domésticos, para futura aplicação em sistemas descentralizados de tratamento de águas residuais como etapa final de polimento.

1.2. Objetivos específicos:

- Avaliar o potencial de produção de biomassa das três espécies de microalgas.
- Avaliar o potencial de toxicidade crônica para três espécies de microalgas em monoculturas expostas a compostos orgânicos e inorgânicos, geralmente presentes em águas residuárias.
- Avaliar o efeito da densidade (algas/mL) de três espécies de microalgas mantidas em monoculturas sobre a redução da carga orgânica, do nitrogênio total e do fósforo total.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Fitorremediação

O aumento da geração de efluentes líquidos e gasosos devido as atividades antrópicas e o seu descarte no meio ambiente, vem reduzindo a disponibilidade e a qualidade dos recursos naturais, representando uma série de ameaças à saúde humana e dos outros organismos, assim como o equilíbrio dos ecossistemas em geral (PACHECO et al, 2015).

Uma grande preocupação mundial é o crescente número de poluentes produzidos e descartados ou liberados diariamente no meio ambiente. Assim como suas propriedades químicas de persistência no meio ambiente e bioacumulação na cadeia alimentar, bem como potenciais efeitos adversos ecológicos e de saúde humana. Sendo assim, há uma necessidade crescente de alternativas tecnológicas, ambientalmente sustentáveis e mais econômicas de mitigação e remediação destes contaminantes, antes que estes cheguem ao meio ambiente (SUTHERLAND 2019).

Atualmente os tratamentos mais avançados e não convencionais de efluentes apresentam limitações econômicas e ambientais que impossibilitam o seu uso e aplicação em estações de tratamento de esgoto (ETE) de grande porte, assim como nos sistemas menores e descentralizados (DIXIT e SINGH, 2014).

O tratamento por fitorremediação, é uma biotecnologia aplicada ao tratamento de águas contaminadas e efluentes domésticos, fazendo uso de microalgas para a remoção ou biotransformação de nutrientes, além de uma série de micropoluentes, e vem se destacado por sua viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental (PACHECO et al, 2015).

A produção de biomassa é outro fator de destaque, visto que aumenta a eficiência de tratamento com a alta capacidade de absorção de compostos e agrega valor comercial a partir da possibilidade da produção do biodiesel e de outros bioprodutos de interesse industrial (DANESHVAR *et al.*, 2018; MUÑOZ e GUIEYSSEA, 2006). O emprego desta tecnologia no tratamento de efluentes industriais está em estudo e desenvolvimento e pode representar uma

importante alternativa à utilização de métodos convencionais, incluindo métodos físicos e químicos.

Segundo Muñoz e Guieysse (2006), diversas espécies de microalgas podem ser utilizadas em tanques ou reatores como forma de tratamento terciário dos esgotos, para polimento final, devido às suas capacidades metabólicas de remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, e metais. Outra vantagem da aplicação desta tecnologia segundo Molina-Cardenas et al. (2014) é que a produção de metabólitos resultantes do processo de tratamento pode causar um efeito de inibição no crescimento de organismos patogênicos como fungos e bactérias.

Para que o cultivo e o tratamento de esgotos utilizando microalgas tenha sucesso, é necessário entender o efeito das diferentes concentrações de nutrientes disponíveis no meio de cultivo e as características e condições físico-químicas (como pH e temperatura entre outros) mais adequadas para o crescimento das microalgas. As características físico-químicas como temperatura e pH, tipo e composição dos efluentes e das águas residuais e dos efluentes, disponibilidade de luz e de CO₂ são fatores muito importantes e devem ser considerados pois afetam diretamente o potencial de biorremediação e o crescimento das microalgas (PITTMAN et al. 2011, PRAJAPATI et al. 2013).

Atualmente, algumas espécies de microalgas tolerantes, chamadas de extremófilas, estão sendo identificadas e isoladas por possuírem modificações genéticas que lhes conferem uma maior adaptação fisiológica para suportar e remover altas concentrações de poluentes, e também de manter um crescimento sustentável sob condições ambientais adversas (WANG et al., 2016), como a variação de temperatura.

Algumas espécies podem crescer e se desenvolver sob temperatura de até 40°C, enquanto outras por serem mais sensíveis podem crescer apenas se a temperatura estiver abaixo de 25°C (CONVERTI et al. 2009). Por outro lado, algumas espécies de microalgas extremófilas podem suportar uma faixa de temperatura mais baixa e podem crescer até no gelo marinho (THOMAS e DIECKMANN 2002). Nos tratamentos convencionais de efluentes, a faixa de temperatura utilizada geralmente é adequada para a maioria das microalgas (20 - 25°C).

Outro fator crítico para o crescimento das microalgas é a ausência de luz solar, que pode ocorrer por condições climáticas ou pela elevada presença de sólidos em suspensão ou de turbidez, principalmente em águas residuais urbanas. Porém as espécies de microalgas heterotróficas ou mixotróficas, conseguem uma fonte alternativa para superar essa ausência de luz, por meio do consumo de carbono orgânico total (JI et al, 2014). A maioria das águas residuais domésticas podem ser utilizadas como meio de cultivo por apresentarem níveis mais altos de carbono orgânico e nutrientes como nitrogênio, fósforo, entre outros (LIANG et al, 2013).

A utilização de águas residuais como meio de cultivo para microalgas é influenciada por uma série de fatores, pois o seu crescimento e reprodução adequados dependem diretamente do controle de pH, temperatura, disponibilidade de luz e CO₂, O₂, e principalmente das concentrações de nutrientes (PITTMAN et al, 2011).

O tipo de efluente utilizado como meio de cultivo para a manutenção das espécies de microalgas também é um fator importante para garantir a sua reprodução e sobrevivência e com isso, sua eficiência na remoção de compostos. Segundo Olguín (2012), amostras de esgoto urbano, esgoto bruto e efluente pré-tratado em diferentes níveis (primário, secundário, lodo ativado, efluente clarificado) foram testadas e em todos os casos os resultados foram satisfatórios para produção de biomassa das algas e remoção de compostos.

De acordo com Aravantinou et al. (2013), mesmo após o efluente ser tratado, este ainda contém concentrações de nutrientes como nitrogênio e fósforo além de elementos como potássio(K), cálcio (Ca), Magnésio (Mg), ferro (Fe), entre outros, que são essenciais para o metabolismo e o crescimento de várias espécies de microalgas. Sendo assim, a aplicação destes efluentes secundários e terciários como meio de cultivo tem sido amplamente difundida.

Por outro lado, diversas substâncias presentes em efluentes e águas residuais domésticas como compostos antimicrobianos, oriundos de produtos de higiene pessoal, podem afetar o crescimento das microalgas de forma negativa, mesmo que este tipo de água apresente uma grande quantidade de nutrientes necessários para o seu crescimento (PRAJAPATI et al. 2013). Outro fator importante relatado por Chekroun et al. (2014) é a presença de agrotóxicos e

cianetos, que em altas concentrações se tornam letais para a maioria das microalgas, mesmo que estas tenham papel ativo na degradação dessas substâncias.

A presença de metais compostos orgânicos tóxicos e contaminantes, como patógenos bacterianos e predadores afetam de forma direta o crescimento das microalgas (PITTMAN et al, 2011). Por isso, é muito importante escolher a espécie de microalga mais adequada para a biorremediação de águas residuais, e o desenvolvimento de metodologias para determinação e remoção de compostos tóxicos que interfiram no crescimento das microalgas nestas águas, incluindo a absorção, acumulação e biodegradação de diferentes poluentes (CHEKROUN et al., 2014).

2.1.1. Bioadsorção, Bioabsorção e Biodegradação.

Segundo Kaplan (2013), e Saavedra et al. (2018), o processo de biorremediação dos contaminantes presentes no meio ambiente pelas microalgas ocorre por três vias principais: bioadsorção, bioabsorção e biodegradação.

A bioadsorção por células de microalgas ocorre quando os compostos são retidos pelos componentes da parede celular de microalgas vivas e mortas (CHOI e LEE, 2015) ou por substâncias orgânicas que são excretadas pela célula no ambiente circundante (XIONG et al., 2017a). Esse processo passivo é um método não-metabólico de interação entre o contaminante e a parede celular microalgal carregada negativamente que exibe alguma afinidade química pelo contaminante carregado positivamente. A capacidade de um contaminante ser adsorvido por superfícies celulares de microalgas depende de sua estrutura química (XIONG et al., 2017a). As superfícies celulares de microalgas contêm uma variedade de grupos funcionais, como carboxila, hidroxila, sulfato e outros grupos carregados que diferem em afinidade e especificidade para vários compostos orgânicos e inorgânicos (HANSDA & KUMAR 2016).

A utilização de biomassa de microalgas mortas (biomassa seca) como agente de bioadsorção tem várias vantagens pois não estão sujeitas a limitações de toxicidade de contaminantes, pode ser reutilizada com o auxílio de um agente

dessorvente, e os custos operacionais são reduzidos, uma vez que não é preciso manter um cultivo de microalgas por longos períodos (DIXIT e SINGH, 2014).

A bioabsorção por células de microalgas ocorre por captação biológica, onde o contaminante é transportado através da parede celular e se liga a proteínas intracelulares e outros compostos. As células de microalgas podem absorver os contaminantes por difusão passiva, que não requer gasto energético da célula; ou por difusão passiva-facilitada, em que os contaminantes se difundem através da membrana celular com a ajuda do transportador de proteínas ou captação ativa, o que requer o uso de energia pela célula (SUTHERLAND e RALPH, 2019).

No entanto, como desvantagem, a bioabsorção pode ser afetada por alguns fatores como: características físico-químicas do ambiente, incluindo temperatura e pH; estado metabólico celular; condição física ou de integridade da célula; ou pela presença de inibidores metabólicos (WILDE e BENEMANN, 1993).

A biodegradação de contaminantes por microalgas envolve a transformação de compostos complexos em moléculas mais simples, por meio da degradação metabólica catalítica (SUTHERLAND e RALPH, 2019). Visto que, em alguns casos os metabólitos dos produtos podem ser mais tóxicos que os compostos parentais, é necessário, investigar continuamente os subprodutos gerados na degradação destes compostos, bem como investigar as interações existentes entre os diversos compostos presentes no meio (KABIR, 2015).

2.1.2. Vias metabólicas

As microalgas apresentam estruturas celulares relativamente simples e são capazes de sobreviver e se reproduzir em quase todos os ambientes, tolerando uma variedade de condições ambientais e contaminantes, requerendo apenas água, luz e CO₂ para o seu crescimento. No entanto, dependendo do tipo do metabolismo da espécie de microalga utilizada, como por exemplo as mixotróficas, podem consumir matéria orgânica melhorando a qualidade da água, sem necessidade de nutrientes (PACHECO et al., 2015).

As microalgas podem utilizar diferentes vias metabólicas como o metabolismo autotrófico, que utiliza a luz como uma fonte de energia que é convertida em energia química por meio de reações de fotossíntese. Esses cultivos exigem períodos maiores para o seu crescimento e resultam em baixas concentrações de células (ADESANYA et al, 2014), como *Chlorella fusca var. vacuolata*, *Scenedesmus obliquus* e *Anabaena variabilis* (HIROOKA et al, 2003).

O metabolismo heterotrófico utiliza apenas compostos orgânicos como fontes de energia e carbono (OTA et al, 2011). Alguns gêneros de microalgas, como *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Tetraselmis* e *Nitzschia* têm a capacidade de mudar entre o metabolismo autotrófico e o metabolismo heterotrófico de acordo com as condições ambientais, por exemplo, uma falta de carbono orgânico no meio pode inibir o metabolismo heterotrófico (SU et al, 2012; ADESANYA et al, 2014).

O metabolismo mixotrófico é uma variação do sistema heterotrófico, em que compostos orgânicos e CO₂ são assimilados, permitindo a operação simultânea da respiração e fotossíntese. O processo de crescimento mixotrófico pode melhorar significativamente a produtividade da biomassa (maior densidade celular e taxa de crescimento) (GIRARD et al, 2014). Perfis mixotróficos têm menos dependência de luz e mostram altas taxas de produção como *S. obliquus* e *C. pyrenoidosa*, (GARCÍ et al, 2000) que tornam este perfil metabólico mais atraente para uma variedade de finalidades, especialmente na mitigação de CO₂ e tratamento de águas residuais.

2.2. Aplicação da Fitorremediação

Historicamente, as estações convencionais de tratamento de águas residuais não foram projetadas para tratar especificamente as diferentes classes de compostos químicos e em muitos casos nem os nutrientes e por isso, muitos destes compostos são dispostos para os corpos hídricos, estando cada vez mais presentes nos ambientes naturais (CARBALLA et al, 2004). Uma vez presentes nestes ambientes, estes podem exercer efeitos ecotoxicológicos, mesmo em concentrações relativamente baixas (MUÑOZ et al, 2005), aumentando os riscos potenciais para a saúde humana.

Como alternativa aos processos biológicos convencionais nas estações de tratamento de águas residuárias, a maioria das tecnologias baseadas em métodos químicos e físicos têm custos elevados (energia e insumos) (CAI et al, 2013), são ambientalmente insustentáveis, resultando em emissão de CO₂, e em muitos casos removem apenas uma fração do nitrogênio total e fósforo presentes no efluente (BOELEEE et al, 2014).

Alguns métodos são utilizados para a remoção de nutriente, como o método de desnitrificação para a remoção de nitrogênio, e o uso de produtos químicos para a remoção do fósforo. Porém ambos podem ser removidos com maior eficiência utilizando as microalgas para a biorremoção de uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos (SINGH e DHAR, 2011 e PEREZ-GARCIA et al, 2011), agindo como o tratamento terciário para polir e para remover qualquer resíduo de nitrogênio e fósforo do tratamento secundário (ACIÉN, 2016). Desta forma é uma alternativa interessante aos sistemas de pós-tratamento atualmente usados, que incluem filtros desnitrificantes que requerem uma fonte de carbono e emitem CO₂ (RAZZAK et al, 2013).

Nas últimas décadas, as microalgas ganharam destaque devido ao seu potencial para recuperação de nutrientes e energia a partir de águas residuais. O cultivo de microalgas em águas residuárias diminui a concentração de macro e micronutrientes, que são poluidores em potencial do meio ambiente, especialmente os aquáticos. A remoção desses nutrientes pode resolver problemas práticos em tratamento de águas residuais (RUIZ et al, 2014).

Além disso as microalgas são conhecidas por sua relevância ecológica (ARENSBERG et al., 1995) pois desempenham um importante papel na estrutura e no funcionamento de muitos ecossistemas aquáticos, como produtores primários. São consideradas sensíveis (PAVLIC et al., 2006) à presença de poluentes no meio, o que pode causar a inibição de muitos processos fisiológicos importantes como a fotossíntese e a divisão celular (JI et al., 2014; ZHANG et al., 2014). No entanto, também são capazes de remover, acumular e degradar vários poluentes orgânicos e inorgânicos (HIROOKA et al., 2005; JI et al., 2014;).

Algumas espécies de microalgas unicelulares, como *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Phormidium* e *Chlamydomonas* foram descritas como candidatas

com alto potencial para tratamento de águas residuais domésticas e produção de biocombustíveis (; LIN e LIN, 2011; OLGUIN, 2003; RAWAT et al., 2011).

Os principais contaminantes encontrados nas águas residuais incluem matéria orgânica, nitrogênio, fósforo, ferro e manganês, os quais também são necessários para a reprodução das microalgas; além de metais e compostos emergentes (hormônios, compostos plásticos e produtos farmacêuticos) que podem ser tóxicos para estes organismos (MUÑOZ e GUIEYSSE 2006).

Além disso, as águas residuais apresentam níveis elevados de nutrientes e carbono orgânico que quando descartados em corpos d'água produzem efeitos de eutrofização e deterioração dos ambientes aquáticos. Tais efeitos acabam resultando em um desequilíbrio ambiental, afetando a saúde dos organismos (MAHAPATRA et al, 2013). Sendo assim, tais substâncias precisam ser removidas antes de chegarem ao meio ambiente. A remoção de nutrientes em um sistema de tratamento de esgotos é um processo caro e complexo que envolve algumas etapas e tecnologias, além de demandar um maior consumo de energia e espaço nas estações de tratamento (AHN et al 2006; OEHMEN et al., 2007).

No entanto as microalgas podem ser cultivadas em águas residuais e remover carbono orgânico e nutrientes inorgânicos como nitrogênio (N) e fósforo (P), desempenhando um papel muito importante na fitorremediação dessas águas, produzindo biomassa viável para várias aplicações (ARBIB et al, 2014). Outro fator importante e que deve ser levado em consideração é que as microalgas, sob condições específicas, podem absorver mais fósforo do que o necessário para sua sobrevivência, armazenando-o para ser usado quando a disponibilidade de fósforo no meio ambiente for limitada (POWELL et al, 2009).

De acordo com Dashevar et al. (2018), baixas concentrações de fósforo (25%) ou a sua ausência interfere de forma direta no desenvolvimento da microalga *Chlorella vulgaris* no meio ambiente, sendo um fator limitante para o seu crescimento, além de afetar a absorção de nitrato, por isso no estudo realizado a microalga não conseguiu remover o nitrato da água mesmo após 12 dias de experimento.

Xin et al. (2010), demonstrou que a eficiência total de remoção de nitrogênio diminuiu de > 99% para 39%, quando a concentração de fósforo total reduziu de

2,00 g L⁻¹ para 0,10 g L⁻¹. A concentração de fósforo na água é um fator fundamental para o crescimento das microalgas, e para a sua capacidade de remoção de nutrientes como o nitrato, do ambiente aquático.

Além dos compostos orgânicos e inorgânicos os fármacos têm recebido atenção especial, pois representam um problema que passa por quase todos os tipos de efluentes gerados e são potenciais causadores de riscos à saúde humana e de outros organismos por serem capazes de alterar o funcionamento do sistema hormonal e de sistemas reprodutivo de alguns organismos sendo classificados como desreguladores endócrinos (DE) (BILA e DEZOTTI, 2003).

O esgoto doméstico contém excretas humanas e apresenta níveis elevados de compostos farmacêuticos, que também se encontram presentes no efluente bruto e no efluente de ETEs, mesmo em tratamento em níveis secundários (NAKADA *et al.*, 2007). A remoção de poluentes por tecnologias convencionais de tratamento de água é ineficaz o que causa sua descarga contínua no meio ambiente e a sua detecção em águas superficiais, subterrâneas e águas residuais (LAPWORTH *et al.*, 2012 e KOLPIN *et al.* 2002). Além disso geralmente não possuem legislação regulatória para seu uso por isso acabam não tendo um monitoramento adequado principalmente para o seu descarte. (SILVA *et al.*, 2011).

A presença de antibióticos no meio ambiente aumentou devido ao seu uso excessivo para tratamentos de saúde. A ciprofloxacina (CIP), por exemplo, é um dos antibióticos mais amplamente usados na medicina humana e veterinária, sua concentração mundial média no ambiente aquático dulcícola relatada como sendo 0,164 mg L⁻¹, e sua concentração máxima detectada foi de 6,5 mg L⁻¹ (HUGUES *et al.*, 2013). Xiong *et al.* (2017a), investigaram a remoção de CIP pela microalga *Chlamydomonas mexicana* que demonstrou baixa eficiência de remoção (13%) de CIP (2 mg/L); entretanto, a adição de acetato de sódio como doador de elétrons aumentou significativamente a eficiência de remoção de CIP para 56% após 11 dias de cultivo pois o uso de substrato orgânico melhora a degradação de poluentes.

Os estrogênios, como estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), etinilestradiol (EE2) e Dietilestilbestrol (DES) também têm sido encontrados no ambiente aquático.

De acordo com relatórios recentes a concentração detectada desses estrogênios variou de 1,75 a 560 ng/L em E1, de 1,31 a 130 ng/L em E2, de 0,27 a 170 ng/L em EE2, e de 2,54 a 6,75 ng/L em DES (ESTEBAN et al, 2014; NIE et al, 2014; ZHANG et al, 2011 e NIE et al, 2015).

Os efeitos adversos dos hormônios nos organismos aquáticos incluem *imposex* (masculinização de moluscos gastrópodes), feminização de peixes e disfunção do sistema endócrino (ROCHA et al, 2013), sendo prejudiciais até mesmo em concentrações extremamente baixas (<1 ng/L) (D'ASCENZO et al, 2003). Além disso, os estrogênios podem se acumular ao longo da cadeia alimentar, afetando gerações futuras da biota aquática (PRAVEENA et al, 2016).

De acordo com o estudo realizado por Liu et al. (2018), a microalga *Raphidocelis subcapitata* demonstrou alta capacidade para a remoção de E2 e DES em níveis de mg/L, indicando perspectivas futuras de sua aplicação no tratamento de águas residuais. Algumas microalgas verdes também têm a capacidade de remover e degradar os hormônios esteroides (WANG et al, 2017). Por exemplo, a espécie *Chlorella vulgaris* foi utilizada para remover EE2 e E1, e *Scenedesmus dimorphus* para remover E1, E2, E3 e 17-estradiol (LAI et al, 2002 e ZHANG et al, 2014). A *Chlamydomonas reinhardtii* apresentou alta adsorção (de 86% e 71%) para E2 e EE2 respectivamente (HOM-DIAZ et al, 2015).

Salomão et al. (2014), estudaram o efeito dos hormônios estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e 17 α -etinilestradiol (EE2) sobre *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata* e os resultados para EC₅₀ (concentração que causa efeito a 50% dos organismos expostos) aumentaram com o tempo de exposição, atenuando os efeitos tóxicos dos estrogênios o que pode estar relacionado à degradação ou absorção pelas algas (LAI et al, 2002).

De acordo com Maes et al. (2014), *Desmodesmus subspicatus* removeu até 68% de 17 α -etinilestradiol (EE2) do meio em um período relativamente curto de 72h. O uso generalizado de EE2 em muitas pílulas anticoncepcionais resulta na liberação contínua dessa substância no meio aquático. Desde o final dos anos 90, EE2 foi detectado em águas superficiais em todo o mundo, principalmente na faixa de nanogramas por litro (LEI et al, 2009).

As concentrações encontradas nas matrizes ambientais brasileiras no caso dos hormônios naturais e sintéticos e dos xenoestrogênios, mostram-se semelhantes, ou até superiores em três ordens de grandeza, às concentrações mais relatadas na literatura internacional (AQUINO et al., 2013).

As interações existentes entre os diversos compostos assim como os subprodutos gerados a partir da sua degradação devem ser estudados e avaliados, pois os metabólitos dos produtos podem ser mais tóxicos (KABIR, 2015), ou pode haver um grande número de contaminantes não detectados ou mesmo desconhecidos (TANG et al., 2013).

Os aspectos relevantes a serem considerados para a utilização de algas em estações de tratamento de águas residuais e/ou utilizadas para produzir biodiesel e bioprodutos são o efeito de atenuação da toxicidade de um composto com o tempo, a morfologia das espécies de microalgas e suas Interações interespecíficas (SALOMÃO et al, 2014).

2.3. Fitorremediação como etapa terciária de tratamento

Atualmente a pesquisa sobre métodos biológicos para tratamento de águas residuais, como a biorremediação, tem recebido uma maior atenção por apresentar várias vantagens em usar técnicas que utilizam diferentes tipos de microrganismos (bactérias, fungos, algas, entre outros) e plantas (fitorremediação), para a remoção de poluentes, incluindo a possibilidade de biorremediação *in situ*, a não produção de poluição secundária, pela queima de biomassa , por exemplo, e baixo custo econômico para implementação (VIJAYARAGHAVAN & YUN, 2008).

O desenvolvimento da técnica de fitorremediação no tratamento de águas residuais apresenta inúmeras vantagens, pois utilizam as microalgas para reduzir as emissões de gases de efeito estufa, melhorar o balanço de energia do processo e recuperar nutrientes (ACIEN, 2016). Já os tratamentos primários e secundários convencionais de águas residuais, oxidam a matéria orgânica (em suspensão e dissolvida) presente no efluente líquido, mas não são eficientes na remoção de nitrogênio e fósforo, compostos orgânicos ou metais pesados (OLGUIM, 2012).

A ficorremediação está sendo utilizada como uma ferramenta promissora no tratamento terciário dos efluentes (etapa de polimento final), consumindo grande parte dos nutrientes (como a ureia), gerando biomassa de algas (RAWAT et al, 2011). Outra vantagem é a fixação do CO₂ e a liberação de O₂ para a atmosfera através da fotossíntese, em níveis superiores aos ocorridos em áreas florestais (RAWAT et al, 2011).

A utilização das microalgas no tratamento de efluentes e na remoção de nutrientes também podem ser aplicadas aos processos de tratamento, como decantação primária do efluente, lodo ativado entre outros (RUIZ-MARTINEZ et al, 2012). Sua utilização é, portanto, uma opção de tratamento emergente para águas residuais fornecendo um efluente tratado de maior qualidade, (ABDEL et al, 2012; RICHARDS & MULLINS 2013; WANG et al. 2017; HASHEMIAN et al. 2019).

2.3.1. Biomassa de algas

A utilização de microalgas para tratamento de águas residuais surgiu como uma alternativa aos processos utilizados no tratamento convencional pois estes precisam de um alto consumo de energia e apresentam uma perda considerável de nutrientes, além de gerar um impacto ambiental significativo devido à emissão de gases de efeito estufa (OLGUÍN, 2012).

A técnica de ficorremediação reduz o consumo de energia e ao mesmo tempo recicla nitrogênio e fósforo, evitando o uso de fontes minerais para o crescimento das microalgas e o esgotamento de reservatórios de fósforo, garantindo a produção de grandes quantidades de biomassa apresentando benefícios ambientais substanciais (OLGUÍN, 2012).

Porém os processos de separação e recuperação de biomassa do cultivo são as principais barreiras para as atividades de produção de microalgas (GRANADOS et al, 2012). O método de separação apropriado pode exigir uma ou mais etapas envolvendo processos químicos, físicos ou biológicos para alcançar a separação sólido-líquido desejada (MATA et al, 2010). Além disso, estas etapas são críticas no processo, pois representam aproximadamente 20-30% do custo total da produção (WU et al, 2012).

Algumas das tecnologias normalmente aplicadas para a separação de biomassa incluem centrifugação, floculação, sedimentação, filtração e

eletrocoagulação (NURRA et al, 2014). No entanto, esses processos de separação convencional têm limitações causadas pelo consumo, custo e eficiência, pois as células de microalgas têm pequenas dimensões, são encontrados em baixas concentrações e são altamente estáveis em suspensão (HU et al, 2013)

É muito importante a escolha da técnica de separação que depende das propriedades específicas de cada espécie de microalga utilizada, incluindo densidade, tamanho e valor dos produtos desejados. As células de microalgas variam em tamanho de 5 a 50 μm e os seus cultivos são geralmente muito diluídos, com concentrações abaixo de 1 g/L (DANQUAH et al, 2009).

As microalgas podem sintetizar grandes quantidades de lipídios, proteínas e carboidratos, que podem ser processados e convertidos em biocombustíveis (DEMIRBAS, 2011). Dependendo das espécies de microalgas vários compostos químicos usados em diferentes setores industriais podem ser extraídos de sua biomassa, incluindo pigmentos, antioxidantes, β -caroteno, polissacarídeos, triglicerídeos, ácidos graxos e vitaminas (MATA et al, 2010).

Segundo Acien et al. (2016) a biomassa de microalgas pode ser usada para fornecer nutrientes, e fitohormônios promotores de crescimento além de produzir biofertilizadores e bioestimulantes para atividade agrícola, porém a sua utilização para outros fins como alimentação animal, geração de produtos químicos, ou até mesmo a produção de bioplásticos, é ainda apenas um conceito. Problemas regulamentares e técnicos ainda existem, limitando assim a utilização da biomassa de microalgas produzida a partir de águas residuais.

Existem outros usos potenciais da biomassa de microalgas, incluindo seu uso direto na aquacultura e na alimentação pecuária (GRANADOS et al, 2012) e biotransformação em bioprodutos de alto valor agregado (LACERDA et al, 2011), como fertilizantes, plásticos e fibras de algas ou alimentos ricos em proteínas (SUTHERLAND e RALPH, 2019).

Além disso devido a sua composição química as microalgas podem ser utilizadas para potencializar o valor nutricional de alguns alimentos para o homem e inclusive em ração animal e enriquecerem a composição de vários tipos de cosméticos de uso humano, por exemplo, os óleos de ácidos graxos poli-insaturados são adicionados a fórmulas nutricionais infantis e suplementos

alimentares e os pigmentos, como clorofila e carotenoides, são utilizados como corantes naturais (GUIL-GUERRERO et al, 2004).

Diversas espécies de microalgas apresentam alto teor de proteínas e aminoácidos (GUIL-GUERRERO et al, 2004), carboidratos e vitaminas essenciais (A, B2, B12, C, E, biotina, ácido fólico e ácido pantotênico entre outros) (BECKER et al, 2004), alto teor de lipídios (METTING, 1996) e ácidos graxos como ômega 3 e 6 (Tabela 1).

Tabela 1: Composição geral de diferentes fontes alimentares humanas e algas (% da matéria seca)

Tipo de alimento	Proteína	Carboidrato	Lipídio	Aplicação e produto	Produção anual	País produtor
Carne	43	1	34	---	---	---
Leite	26	38	28	---	---	---
Arroz	8	77	2	---	---	---
Soja	37	30	20	---	---	---
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	---	---	---
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	Nutrição humana, aquacultura, cosméticos	2000t peso seco	Taiwan, Alemanha e Japão
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	Nutrição humana, cosméticos, β -caroteno	1200t peso seco	Australia, EUA, China e Israel
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	---	---	---

Fonte: adaptado de Spolaore et al, 2006.

No entanto, diferentes tipos de águas residuais podem apresentar variações nas concentrações de nitrogênio, fósforo e carbono (LIU et al., 2016). Tais variações, podem interferir no crescimento de algumas espécies de microalgas, e dependendo da concentração pode causar também toxicidade. Para que esses fatores sejam amenizados, recomenda-se a manipulação de águas residuais, por diluição ou mistura para garantir a saúde e qualidade do cultivo e a eficácia do tratamento de águas poluídas.

Vale ressaltar também que o cultivo de microalgas em escala industrial é financeiramente inviável baseado no preço elevado do meio de cultivo artificial que é utilizado para a reprodução e crescimento das microalgas resultando na produção dessa biomassa. Uma alternativa interessante e promissora para

viabilizar este tipo de produção é a utilização de efluentes domésticos como meio de cultivo (SYDNEY *et al.*, 2011).

A adição de micronutrientes, bem como EDTA, no meio de cultivo de microalgas são importantes para melhorar a fixação de CO₂, a eficiência da fotossíntese e a produção de biomassa (SINGH *et al.*, 2016). Carvalho *et al.* (2006) mostraram que a concentração de células de microalgas diminuiu significativamente na ausência de micronutrientes, como ferro, zinco e cobre. Os resultados apresentados por Daneshvar *et al.* (2018) demonstraram que a mistura de dois tipos de águas residuais (de indústria e de aquicultura) apresentaram quantidades suficientes de micronutrientes essenciais para o cultivo de microalga.

Outro importante uso potencial da biomassa de microalgas é na produção de biocombustíveis. De acordo com Sivakumar *et al.* (2012) as microalgas são capazes de produzir lipídeos e hidrocarbonetos de forma rápida e possuem habilidades fotossintéticas que contribuem para o seu uso no tratamento de efluentes, sendo utilizadas como fonte alternativa de energia através da produção de biodiesel (HUANG *et al.* 2010), sendo, a capacidade de biorremediação das microalgas e a produção de biocombustíveis considerada como uma importante ferramenta para a sustentabilidade ambiental (ELLIS *et al.* 2012; LIM *et al.* 2010).

A produção de biodiesel a partir de algas como combustível limpo, renovável e carbono-natural é uma alternativa promissora aos combustíveis fósseis. Outros produtos como biopolímeros, pigmentos, fertilizantes e biocombustível também são derivados da biomassa de algas produzida em águas residuais (BATISTA *et al.*, 2013).

2.3.2. Fixação biológica de CO₂

A industrialização trouxe como consequência um aumento progressivo da descarga de poluentes tóxicos na captação de sistemas de água. O processamento de gás natural, a energia elétrica, as indústrias de produção de cimento, ferro e aço além da combustão de resíduos sólidos urbanos estão entre as principais fontes de CO₂ atmosférico, considerado um dos gases de efeito estufa mais importantes (KUMAR *et al.* 2011).

A produção de CO₂ antropogênico é responsável por 68% do total de emissões de GEE associadas às mudanças climáticas e ao aquecimento global a níveis alarmantes (HO et al 2011).

Atualmente as tecnologias disponíveis para a captura e sequestro de CO₂ consomem grandes quantidades de energia e não são economicamente viáveis em uma escala comercial. Para reduzir de forma efetiva a produção de CO₂, pós-combustão, para níveis ambientalmente aceitáveis é necessário a realização de estudos e pesquisas sobre tecnologias de captura e sequestro de CO₂, sobre melhorias na eficiência energética e no desenvolvimento de alternativas para energias renováveis (LAM et al 2012).

A fixação de gás carbônico atmosférico por microalgas pode ser considerada uma tecnologia promissora para a captura e armazenamento de CO₂ pós-combustão (FARHADIAN et al 2008). Nestes casos, as microalgas podem ser capazes de assimilar CO₂, usando a energia solar como fonte de energia, com uma eficiência de até 10 vezes superior às plantas terrestres (PIRES et al 2012). Outra vantagem é que necessitam de menores áreas para o cultivo (ABD RAHAMAN et al 2011), não sendo necessário a aplicação de herbicidas e pesticidas no seu cultivo (KHAN et al 2009).

Nayak et al. (2016) avaliou o potencial da microalga *Scenedesmus sp.* no tratamento de águas residuais domésticas, para biofixação de CO₂ e para biossíntese de lipídios na aplicação de biocombustíveis. O cultivo suplementado com 2,5% (v/v) de CO₂ foi considerado mais adequado e resultou na maior produtividade de biomassa (33,3%) e de teor de lipídios totais de 23%. Neste mesmo estudo foram verificadas uma taxa de consumo de CO₂ de 196 mg/L por dia; e numa eficiência de remoção de amônio, nitrato e fosfato e uma redução na demanda química de oxigênio (DQO) das águas residuais de até 98%.

2.4. Espécies de microalgas utilizadas na fitorremediação

De acordo com Bascik-Remisiewicz (2011) a qualidade do cultivo de microalgas influencia diretamente na sua resistência aos contaminantes que podem estar presentes no meio. Um cultivo de microalgas realizado em um local com as condições ideais para a sua sobrevivência apresenta um alto potencial para lidar com fatores de estresse químico, reduzindo as chances de alterações

em seus processos vitais. Porém condições desfavoráveis de crescimento como meio de cultivo pobre e densidade inicial baixa (microalgas/mL), podem diminuir a resistência dos organismos à toxicidade de produtos químicos.

No processo de seleção das espécies a serem utilizadas no tratamento de águas residuais e na produção de biocombustíveis, algumas características devem ser consideradas, como taxa de crescimento elevada, alto conteúdo lipídico e produtividade, maior tolerância aos possíveis poluentes, alta tolerância ao NH_4^+ , altas taxas de geração de O_2 , alta capacidade de absorção de CO_2 e alta tolerância às variações das condições ambientais (WANG et al, 2016).

Algumas espécies de microalgas verdes unicelulares, tais como *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata* têm sido utilizadas (separadas ou em conjunto) em estudos de toxicidade, remoção e biodegradação e outros compostos químicos, e até no tratamento de águas residuais (DANESHVAR et al., 2018; JI et al., 2018; LIU et al., 2018; SALOMÃO et al., 2014; WANG et al., 2015; JI et al., 2014).

A *Chlorella sp.* vem sendo amplamente utilizada em tratamentos de águas residuais devido à sua capacidade de remoção de nitrogênio, fósforo e redução na demanda química de oxigênio (DQO), enquanto *Scenedesmus sp.* pode ser cultivada em águas residuais de alta salinidade (Kim et al., 2016) e águas residuais suínas com alta taxa de demanda química de oxigênio (DQO) (PRANDINI et al., 2016). Já a *Raphidocelis subcapitata* tem sido frequentemente utilizada em ensaios ecotoxicológicos e na remoção de contaminantes orgânicos (LLASERA et al 2016).

Nos últimos anos, as espécies dos gêneros *Chlorella*, *Desmodesmus* e algumas cianobactérias têm sido as mais empregadas em vários tipos de tratamentos de águas residuais, devido às suas alta taxas de crescimento, alta tolerância ambiental e altos conteúdos lipídicos, (KIM et al., 2016; WANG et al., 2015).

De acordo com Wang et al. (2012) e Shen et al. (2017) microalgas como *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus* podem usar glicose e outras matérias orgânicas como fonte de carbono para aumentar sua taxa de crescimento. Além disso a microalga *Chlorella vulgaris* é capaz de bio-concentrar estrogênios naturais e sintéticos (LAI et al, 2002).

Daneshvar et al. (2018) estudou o uso de *Chlorella vulgaris* no tratamento de efluentes e na extração de lipídios e os resultados deste estudo revelaram que *C. vulgaris* é um potencial candidato para o tratamento de águas residuais e para acumulação de lipídios e carboidratos. Segundo He et al. (2016) a microalga *C. vulgaris* é muito utilizada na remoção de nutrientes inorgânicos, metais pesados e contaminantes orgânicos de águas residuárias com baixo custo e alta eficiência.

Uma alternativa promissora que está sendo utilizada para aumentar a eficiência do processo de fitorremediação em comparação com os sistemas tradicionais de tratamento de águas residuais é a capacidade que as microalgas possuem de crescer em conjunto com outros microrganismos (consórcios microbianos), como as bactérias, estabelecendo uma relação de simbiose, aumentando a eficiência do tratamento de biorremoção e biotransformação de fármacos e outros compostos químicos (JI et al., 2018; SHEN et al, 2017).

Os consórcios microbianos entre microalgas-bactérias é uma alternativa mais econômica do que o tratamento aeróbio convencional para águas residuais (PACHECO et al, 2015). Além disso, ao ser combinado com o tratamento convencional em sistemas de lodos ativados, têm o potencial de reduzir a alta demandas de energia elétrica para aeração. Nestes casos, as microalgas consomem o dióxido de carbono (CO₂) produzidos a partir da respiração bacteriana e fornecem oxigênio (O₂) através da fotossíntese para as bactérias aeróbicas que degradam os compostos orgânicos (ARIZA 2018).

Shen et al. (2017) relataram que a utilização do consórcio de microalgas (*Chlorella vulgaris*) e bactérias (*Pseudomonas putida*) potencializa a taxa de remoção dos contaminantes durante os processos de tratamento biológicos. O tratamento aplicado de co-imobilizado apresentou melhores eficiências na remoção de nutrientes de águas residuais em um único reator (COD de 97%, NH₄⁺ -N de 100% e PO₄³⁻ -P de 100%). Tais resultados indicaram uma maior e melhor capacidade de absorção dos nutrientes pelo consórcio microbiano, assim como, uma maior taxa de crescimento dos microrganismos. Confirmando assim, a existência de interações simbióticas entre os microrganismos avaliados.

Outro exemplo de co-tratamento foi apresentado por Valderrama et al (2012) onde a microalga *C. vulgaris* e uma macrófita, *Lemna minuscula*, foram aplicadas para o tratamento biológico de efluente industrial, anaeróbio recalcitrante. Neste caso, a macrófita impediu o crescimento de outras espécies de macrófita, enquanto *C. vulgaris* reduziu/biodegradou os íons de amônio (72%), fósforo (28%) e demanda química de oxigênio (61%) (VALDERRAMA et al., 2002).

Por fim, para que a fitorremediação seja vantajosa e economicamente viável é muito importante a escolha da espécie de microalga que seja mais adequada para o tipo de efluente a ser tratado, além do uso da biomassa para a produção de subprodutos comercialmente valiosos como fertilizantes e biocombustíveis e principalmente a escolha do método de recuperação de biomassa, pois é nesta fase que os maiores custos operacionais e de implantação são encontrados.

3. METODOLOGIA

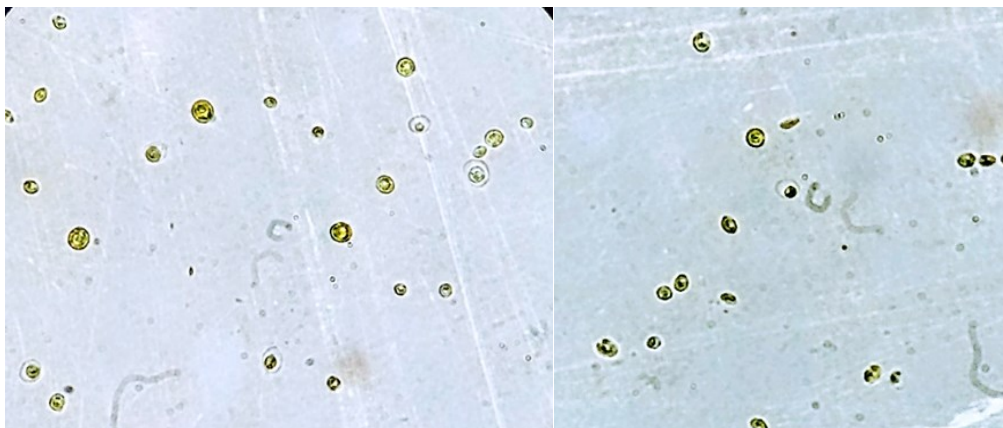
Os ensaios foram realizados no Laboratório de Biorremediação, Fitotecnologias e Inovação no Tratamento de Água e Efluentes (LABIFI), da Faculdade de Engenharia localizado no campus Maracanã da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), conforme o protocolo descrito nos subitens abaixo.

3.1. Cultivo de microalgas

Os cultivos das microalgas unicelulares fotossintéticas *Chlorella vulgaris* (Figura 1), *Desmodesmus subspicatus* (Figura 2) e *Raphidocelis subcapitata* (Figura 3) foram mantidos, de acordo com a Norma ABNT NBR 12648:2018, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae), (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS), em meio L. C. Oligo, em incubadora sob temperatura de 23°C a 27°C, fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro, e iluminação de 4500 lux (Figura 4). Mensalmente os cultivos foram replicados, e o seu crescimento e desenvolvimento foram monitorados quinzenalmente por contagem ao microscópio.

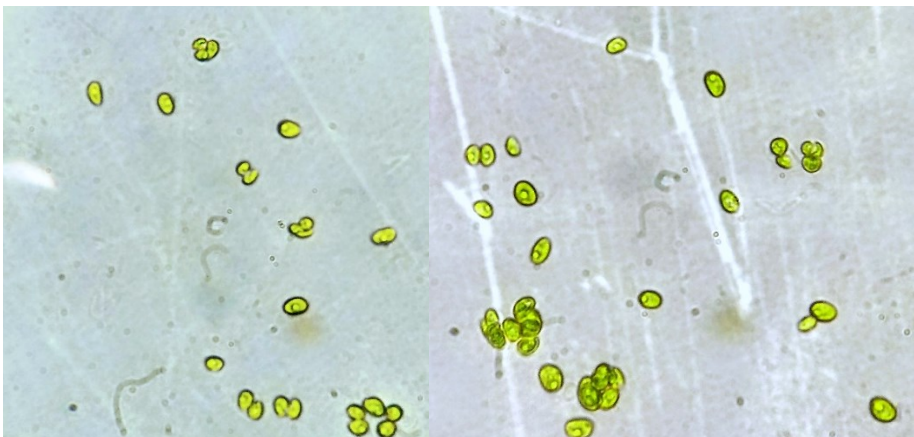
As cepas das espécies de microalgas unicelulares fotossintéticas *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata* foram adquiridas do banco de algas da Universidade Linnaeus, na Suécia e cultivadas na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Figura 1: Microalgas da espécie *Chlorella vulgaris* em microscópio óptico (400x)



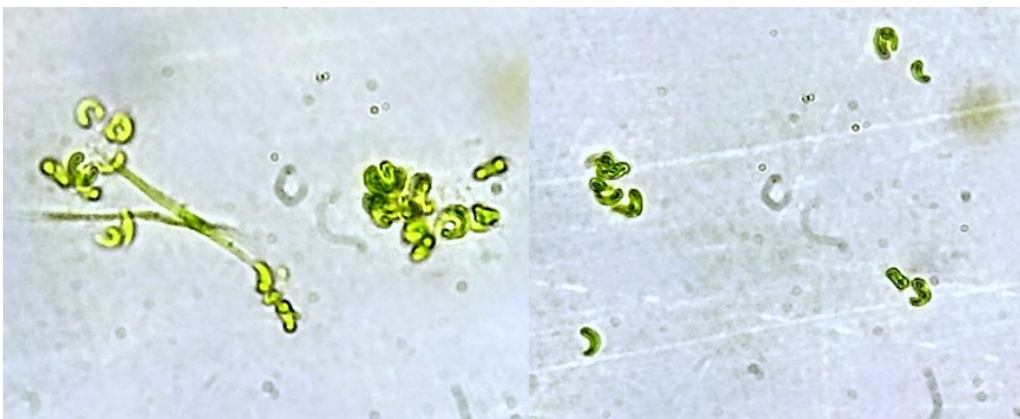
Fonte: A autora (2019).

Figura 2: Microalgas da espécie *Desmodesmus subspicatus* em microscópio óptico (400x)



Fonte: A autora (2019).

Figura 3: Microalgas da espécie *Raphidocelis subcapitata* em microscópio óptico (400x)



Fonte: A autora (2019).

Figura 4: Cultivo das microalgas em incubadora com fotoperíodo e temperatura controlada.



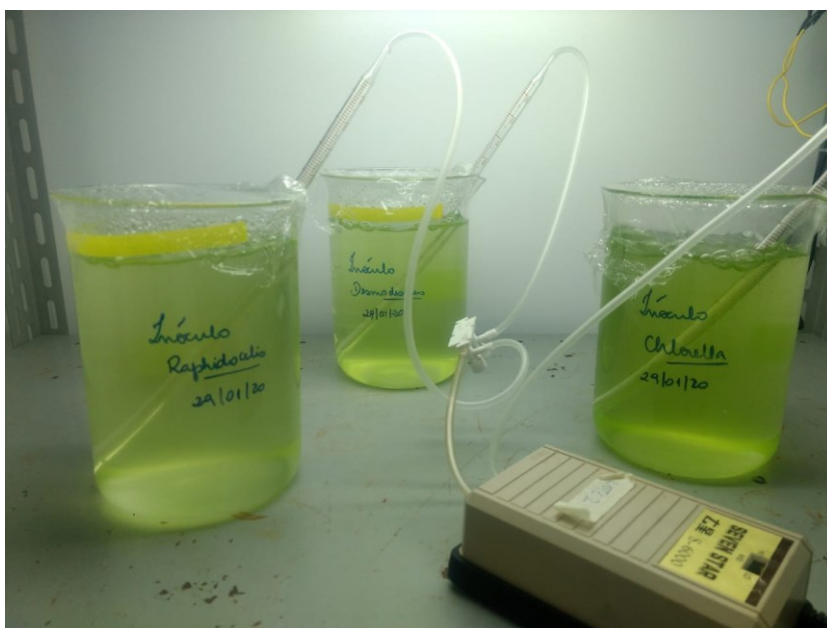
Fonte: A autora (2019).

3.2 Preparo do inóculo para ensaio

Para realizar a manutenção do cultivo, uma alíquota (5 mL), de cada espécie de microalga, foi inoculada em frascos do tipo Béquer de 250 mL, devidamente lavados e esterilizados. Cada Béquer continha 200 mL de meio L.C. Oligo, preparado conforme recomendado no Anexo A, da Norma ABNT:NBR 12648:2018.

Os inóculos foram preparados cinco dias antes do início dos ensaios para garantir que as células algáceas estivessem em fase exponencial de crescimento com 10^5 células/mL no início do ensaio, com volume final de 900 mL, sendo 700 mL de meio L.C. Oligo e 200 mL do cultivo de cada espécie. Os inóculos foram mantidos sob a temperatura de 23° C a 27° C, luz contínua (4500 lux) e aeração constante, para evitar a sedimentação (Figura 5).

Figura 5: Pré cultivo das microalgas *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus subspicatus* e *Raphidocelis subcapitata*.



Fonte: A autora (2019).

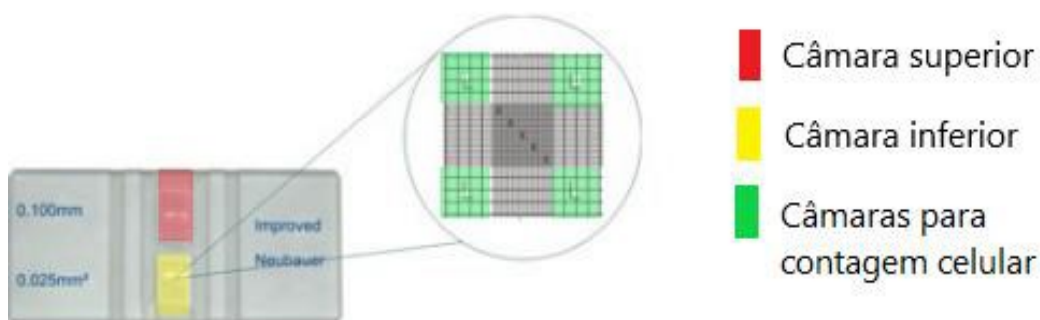
3.3 Contagem das células algáceas em microscópio óptico

A contagem celular, para verificar a densidade de células/mL, foi realizada em microscópio óptico da marca Nikon (modelo Elipse E200, Tóquio, Japão) com

400x aumento, utilizando-se uma câmara de Neubauer. Esta câmara consiste em uma lâmina de vidro dividida em duas câmaras, superior e inferior, contendo oito quadrantes em cada, sendo cada um deles subdividido em 16 quadrantes de $1/25\text{mm}^2$ (Figura 6).

Na contagem foram contabilizadas as células visualizadas nos quadrantes laterais das câmaras superior e inferior. O cálculo para a determinação do número de células foi realizado com a média desses valores. O número de células obtidas foi multiplicado por 80.000 que corresponde a oito quadrantes da lâmina, para se obter o número total de células de microalgas presentes em cada amostra analisada.

Figura 6: Câmara de Neubauer para contagem de células das microalgas.

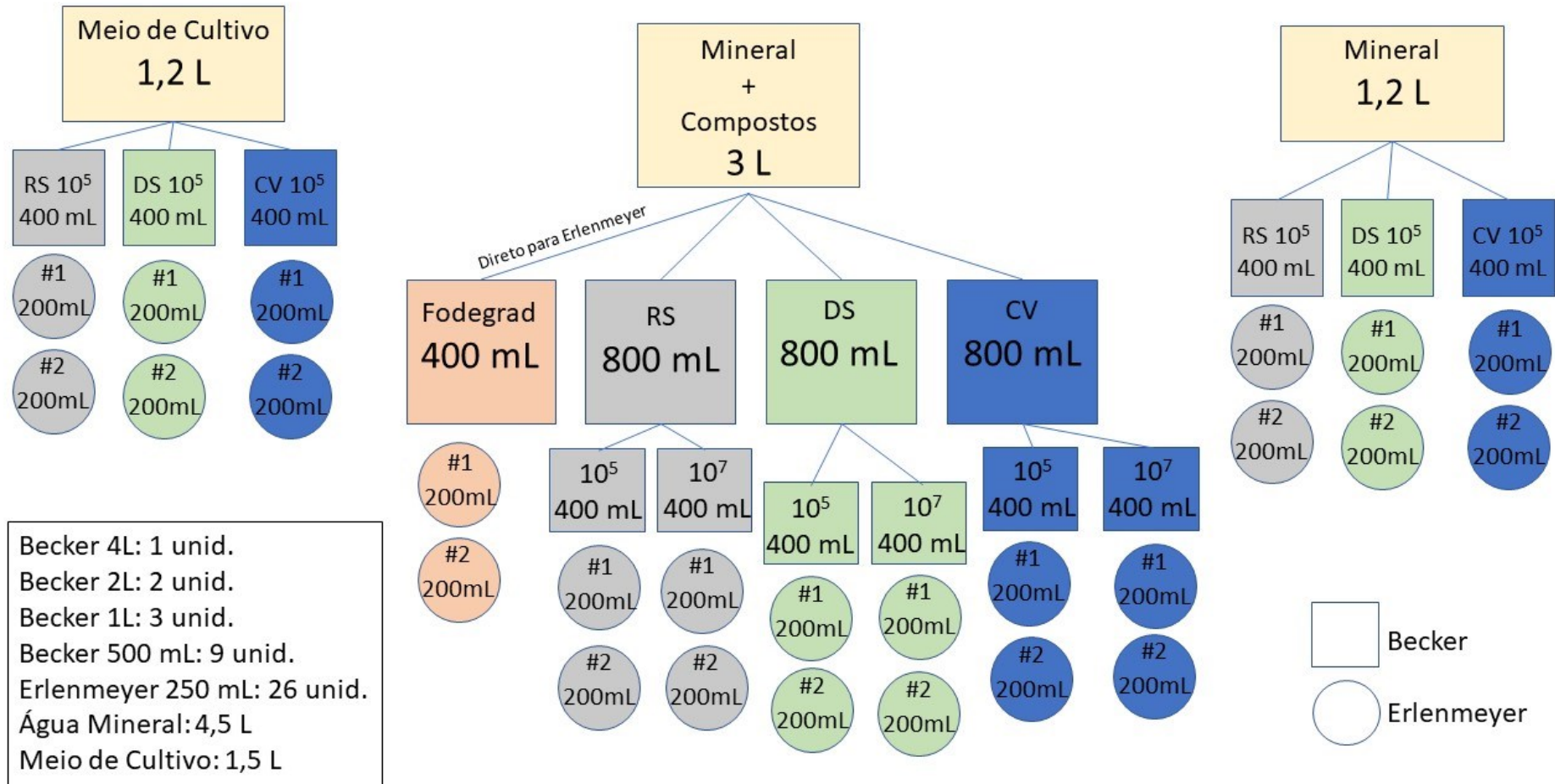


Fonte: Adaptado de www.casalab.com.br

3.4. Fitorremediação em água mineral

No dia do ensaio, para evitar possíveis interferências de alguns compostos presentes no meio de cultivo, o inóculo foi centrifugado em tubos Falcon de 50 mL com 30 mL do cultivo de cada espécie de alga (15 min, 1.500 rpm a 4°C) e o sobrenadante descartado. Após a centrifugação, as microalgas sedimentadas foram transferidas cuidadosamente para Béquer de 100 mL e depois transferidos para Erlenmeyers de 250 mL contendo 200 mL de água mineral, conforme o desenho esquemático do ensaio de fitorremediação (Figura 7).

Figura 7: Desenho esquemático do ensaio de biorremediação de compostos orgânicos e inorgânicos com três espécies de microalgas.



Fonte: A autora, 2019.

Os ensaios foram realizados em monoculturas, com duração de 96 h, com duas densidades (10^5 e 10^7 algas/mL) de cada uma das três espécies de microalgas, com temperatura entre 23°C e 27°C, e com aeração e iluminação contínuas (4.500 lux) (Tabela 2).

Sendo assim, foram adicionados os compostos nas concentrações de 400 mg/L de glucose, 20 mg/L de nitrato de potássio; 20 mg/L de molibdato de amônia tetra hidratado e 10 mg/L de fosfato de potássio dibásico. Com isso, as microalgas foram expostas a uma solução com 600 mg/L de DQO, 24 mg/L de nitrogênio total e 10 mg L⁻¹ de fosfato, em água mineral (Tabela 3).

As concentrações nominais dos compostos inorgânicos (amônia, nitrato e fósforo) e da glicose foram obtidas a partir do cálculo estequiométrico dos seguintes compostos: Cloreto de amônio (NH₄Cl); Nitrato de potássio (KNO₃); Fosfato de potássio monobásico anidro (H₂KO₄P) e Glicose anidra (C₆H₁₂O₆), e foram analisados de acordo com os métodos padrão (APHA, 2012).

Tabela 2: Condições de ensaio realizado em monoculturas com as microalgas *C. vulgaris*, *R. subcapitata* e *D. subspicatus* para análise da produção de biomassa e da fitorremediação dos compostos orgânicos e inorgânicos.

Parâmetros	Condições de ensaio
Espécies de microalgas	<i>C. vulgaris</i> ; <i>R. subcapitata</i> ; <i>D. subspicatus</i>
Período	96 h
Meio de cultivo	Água mineral
Densidade de algas	10^5 e 10^7 algas/mL
Controles	Negativos 1 e 2 e fotodegradação
Fotoperíodo	16:8h (luz:escuro)
Temperatura ambiente	23°C – 27°C
Aeração	24 h
Análises	Biológicas: número de algas (algas/mL) e biomassa (mg/L); Físico-químicas: DQO, Nitrato, Amônia e Fósforo total.

Fonte: A autora, 2019.

Tabela 3: Desenho experimental do ensaio de 96 h com três espécies de microalgas em duas densidades diferentes e concentrações iniciais de compostos orgânicos e inorgânicos.

Espécies de Microalgas	Densidade (mg/L)	DQO (mg/L)	Nitrogênio Total (mg/L)	Fósforo (mg/L)
<i>R. subcapitata</i>	10 ⁵	600	24	10
	10 ⁷	600	24	10
<i>C.vulgaris</i>	10 ⁵	600	24	10
	10 ⁷	600	24	10
<i>D. subspicatus</i>	10 ⁵	600	24	10
	10 ⁷	600	24	10

Fonte: A autora, 2019.

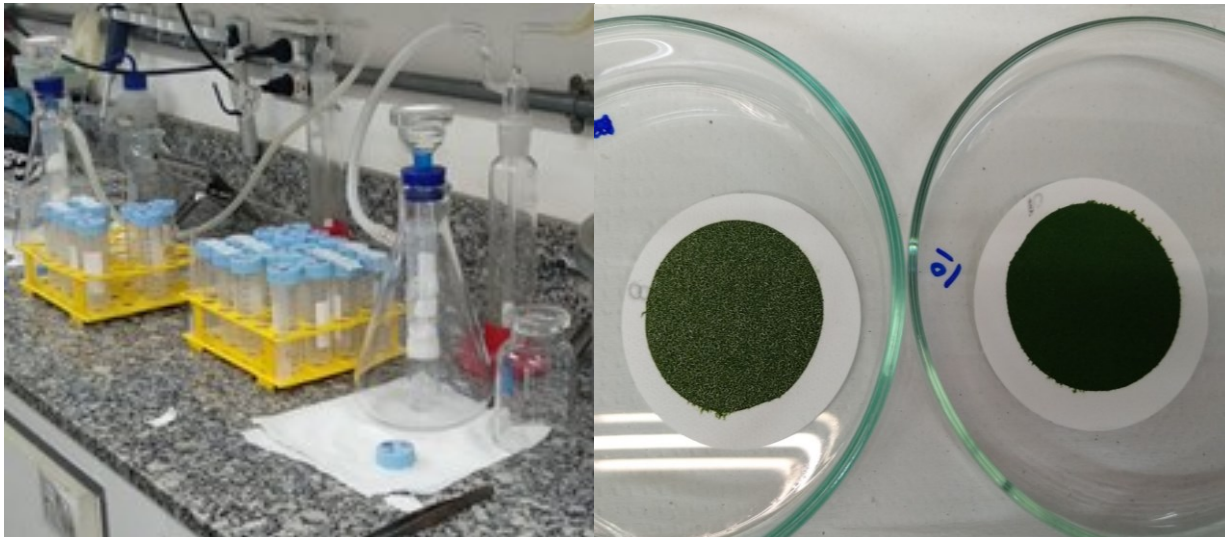
Após o preparo das soluções, foram realizadas as análises laboratoriais de amônia, nitrato, fosfato e DQO, assim como o procedimento de filtração das amostras para a quantificação da biomassa seca para cada espécie de microalga, nas duas densidades. Com isso, amostras de 50 mL foram coletadas a cada 24 h (0; 24; 48; 72; e 96h) para a determinação da produção de biomassa e para a quantificação dos compostos de interesse livres na água.

A produção de biomassa de algas foi realizada pela determinação da biomassa seca, com a filtração de 25 mL em membrana de fibra de vidro de 0,2 - 0,6 µm, com pesagem do material retido após secagem em estufa a 30°C por duas horas (ou até peso constante) (Figura 8).

Com o intuito de promover uma melhor avaliação da qualidade dos resultados, três tipos de controles (dois negativos e um de fotodegradação) foram preparados, para cada espécie de microalga (Figura 9). Estes foram realizados em frascos do tipo Erlenmeyers de 250 mL e mantidos nas mesmas condições que as amostras. Em um dos controles negativos continha água mineral, como meio de cultivo, e uma espécie de alga (10⁵ algas/mL). Já no outro, o meio de cultivo L.C. Oligo e uma espécie de alga (10⁵ algas/mL). O controle de fotodegradação continha água mineral e uma mistura contendo os

quatro compostos avaliados na mesma concentração do ensaio de fitorremediação.

Figura 8: Filtração em membrana de fibra de vidro para obtenção de biomassa seca de microalga após secagem em estufa.



Fonte: A autora, 2019.

Figura 9: Três tipos de controles (dois negativos e um de fotodegradação) para cada espécie de microalga.



Fonte: A autora, 2019.

Após 96 h (Figura 10), os resultados obtidos foram analisados, sendo possível verificar a redução do DQO e a remoção do fosfato, amônia e nitrato, sendo esses dois últimos analisados como nitrogênio total, além do aumento da biomassa das microalgas. Através de gráficos gerados em MS Excel e análises estatísticas foi possível fazer comparações entre o desempenho das diferentes microalgas e suas diferentes densidades.

Figura 10: Encerramento dos ensaios.



Fonte: A autora, 2019.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

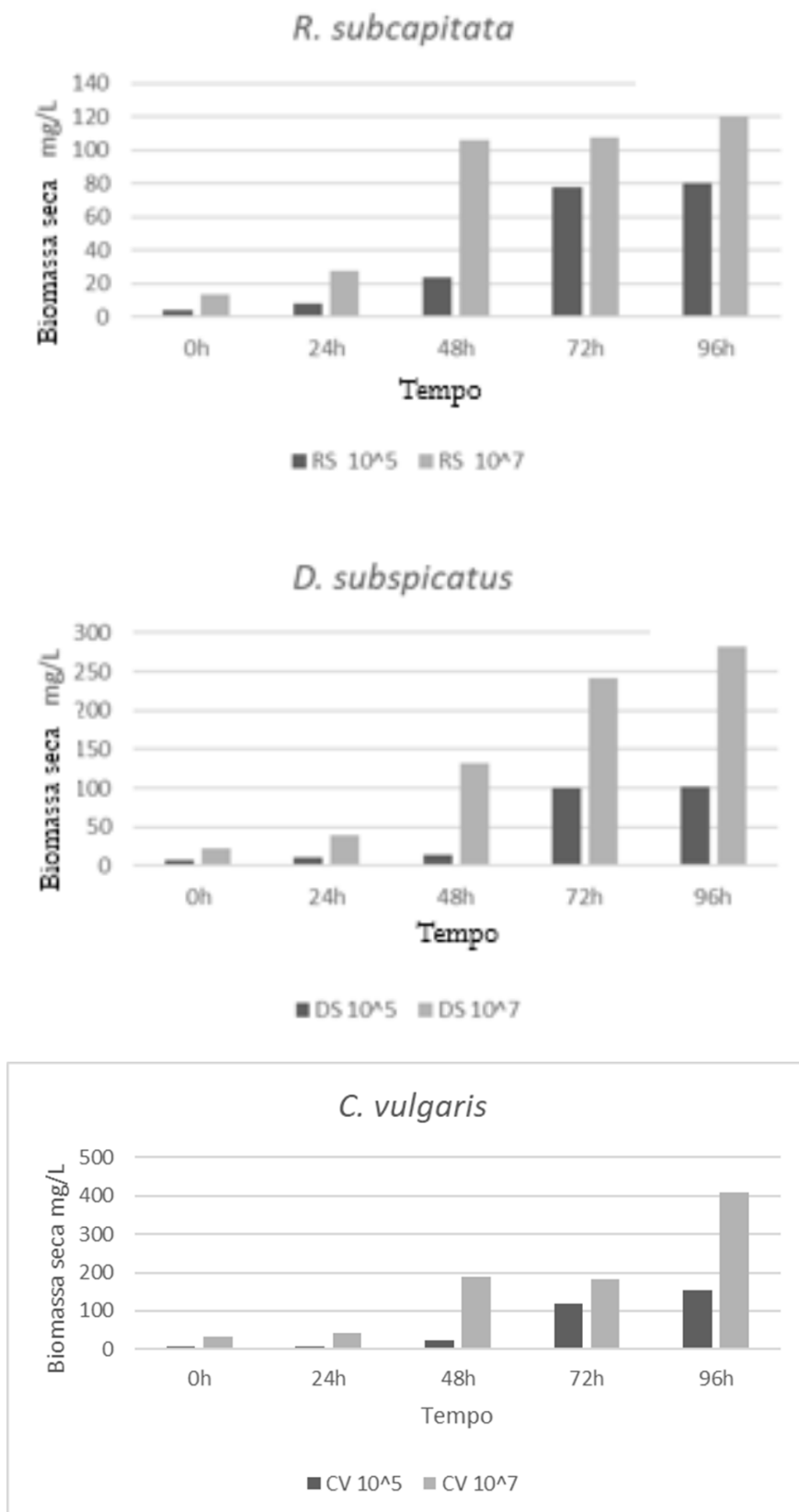
4.1. Produção de biomassa de microalgas

Como esperado, após 96 h foi observado um aumento significativo na produção de biomassa das três espécies de microalgas avaliadas. Sendo assim, não foi verificado efeitos tóxicos de exposição aos compostos nas concentrações testadas para as duas densidades das três espécies avaliadas.

Na densidade de 10^7 algas/mL, a maior produção de biomassa algal foi observada para *C. vulgaris* (aumento de 1.181% e uma produção de biomassa de 328 mg L^{-1}) seguida por *D. subspicatus* (aumento de 1.182% e uma produção de biomassa de 260 mg L^{-1}), e *R. subcapitata* (aumento de 757% e uma produção de biomassa de 106 mg L^{-1}).

Já na densidade de 10^5 algas/mL, a maior produção de biomassa foi também por *C. vulgaris* (aumento de 1825% e uma produção de biomassa de 146 mg L^{-1}), seguido por *D. subspicatus* (aumento de 1175% e uma produção de biomassa de 94 mg L^{-1}) e *R. subcapitata* (aumento de 1900% e uma produção de biomassa de 76 mg L^{-1})., Vale ressaltar que embora *R. subcapitata* (10^5 algas/mL) tenha uma taxa de crescimento superior (%), foi verificada uma maior produção de biomassa (mg/L) para *C. vulgaris* (Gráfico 1).

Gráfico 1: Produção de biomassa de três espécies de microalgas em duas densidades de 10^5 algas/mL e 10^7 algas/ mL ao longo de 96 h em água mineral.



Fonte: A autora, 2019.

De acordo com MUÑOZ e GUIEYSSE (2006) a variação no tempo de retenção hidráulica (TRH) de um tanque de algas, ou seja, o tempo de exposição das microalgas para ficorremediação, dependerá da capacidade de biorremediação de cada espécie de microalga utilizada e do poluente a ser tratado.

A avaliação do TRH torna-se relevante, pois este influencia no volume de efluente tratado por dia ou no tamanho das unidades de tratamento ou tanques de algas, o que pode inviabilizar o projeto devido aos gastos. Em alguns casos ou para alguns poluentes, o maior TRH necessário para o tratamento pode ser visto como uma das desvantagens da ficorremediação (ACIÉN et al., 2016; DE-BASHAN E BASHAN, 2010; NORVILL et al., 2016). No entanto, para tentar compensar tal desvantagem ou para que a bioacumulação e a biotransformação sejam rápidas, a densidade das algas (algas/mL ou mg/L de peso seco) deve ser considerada como um dos principais fatores (CHEKROUN et al., 2014).

Su et al. (2012) investigaram a relação da densidade do inóculo de microalgas com a produção de biomassa e a taxa de remoção de nutrientes. De acordo com seus resultados a menor densidade do inóculo de algas levou a uma maior taxa de acúmulo de biomassa. Uma possível explicação para este fenômeno foi que a razão entre o nutriente disponível e o número de células de algas estava alto, o que teria promovido uma maior taxa de crescimento de algas. Por outro lado, segundo Guieysse et al. (2002) uma maior densidade inicial do inóculo de algas pode gerar um sombreamento mútuo dentro da população de algas e assim diminuir a incidência luminosa no cultivo, reduzindo as taxas de crescimento das microalgas

Alguns outros pontos levantados pela literatura, como os cultivos mistos de determinadas espécies de microalgas, podem melhorar a tolerância aos impactos ambientais, aumentar o potencial de remediação e com isso otimizar o desempenho do sistema de tratamento de águas residuais. Além disso, este estudo mostrou que um cultivo misto de microalgas pode melhorar a remoção de nutrientes das águas residuais e o ciclo de iluminação e a velocidade de mistura pode influenciar na remoção de nutrientes e na produção de biomassa (OLGUIN, 2003).

Su et al. (2012) e Arbib et al. (2014) testaram as espécies *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella kessleri* e uma floração natural em águas residuais urbana e sintética e relataram que todas estas cepas foram capazes de crescer nos dois tipos de meios, sem diferenças significativas e em suas concentrações máximas de biomassa.

Segundo Daneshvar et al. (2018) baixas concentrações de nitrato e fosfato em água residual industrial podem interferir significativamente na produção de biomassa de *C. vulgaris*. Tal fato foi também comprovado por Nayak et al. (2016) que observou que o crescimento ideal de microalgas depende da concentração de nitrogênio, fósforo e compostos de carbono como nutrientes essenciais.

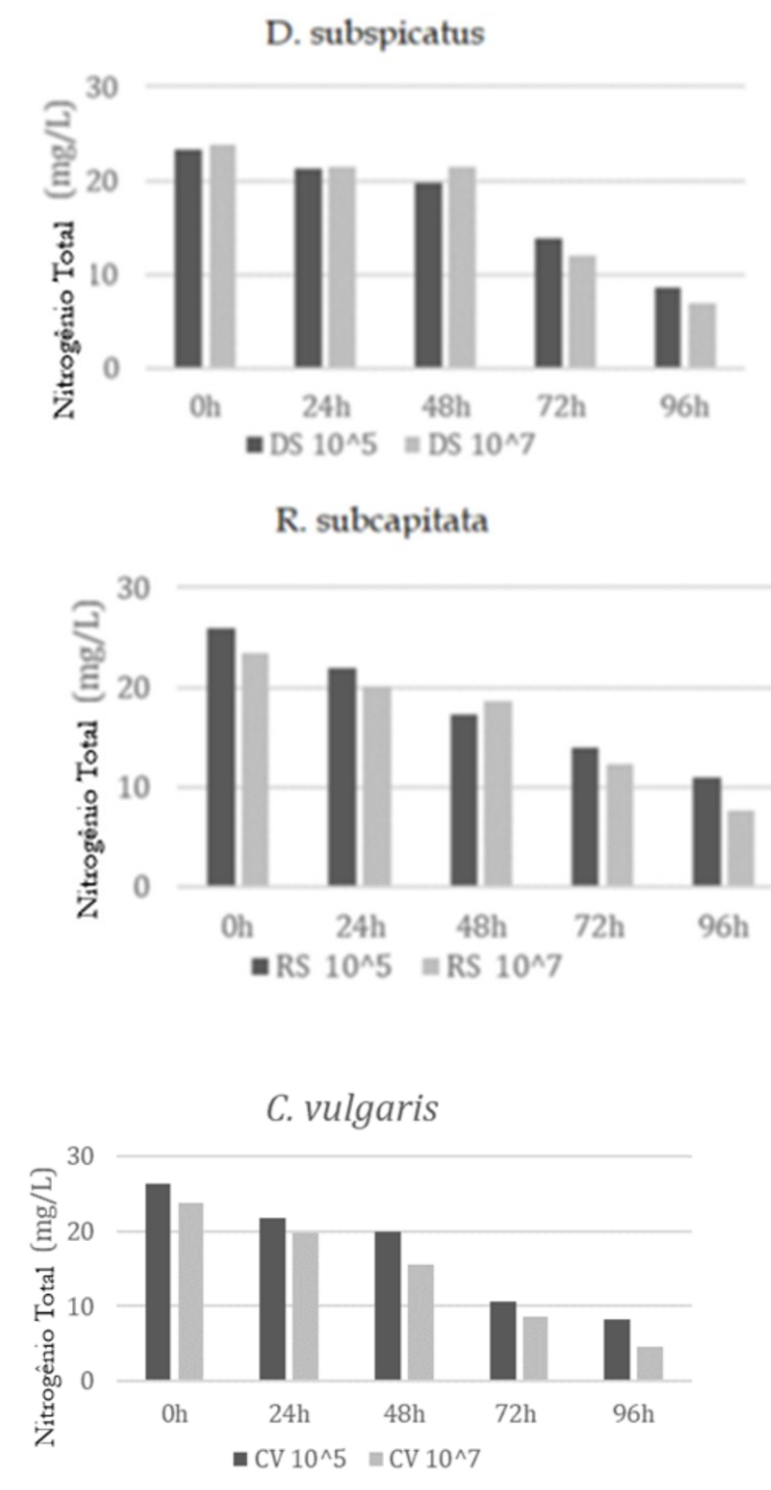
4.2. Biodegradação de compostos inorgânicos

4.2.1. Remoção de nitrogênio total

A densidade de 10^7 algas/ mL foi a que apresentou maior eficiência na remoção de nitrogênio total para as três espécies de microalgas. Sendo que, a maior remoção foi observada no bioensaio com *C. vulgaris* com 80% ($19,1 \text{ mg L}^{-1}$), seguido por *D. subcapitata* com 71% ($16,9 \text{ mg L}^{-1}$) e *R. subspicatus* com 67% ($15,8 \text{ mg L}^{-1}$).

Já nos bioensaios com a densidade de 10^5 algas/mL, foram observadas as seguintes reduções de nitrogênio total: *C. vulgaris* diminuiu 69% ($18,1 \text{ mg L}^{-1}$); *D. subcapitata* reduziu 63% ($14,6 \text{ mg L}^{-1}$) e *R. subspicatus* reduziu 58% ($15,0 \text{ mg L}^{-1}$) (Gráfico 2).

Gráfico 2: Decaimento da concentração de nitrogênio total, ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas/mL.



Fonte: A autora, 2019.

Os compostos nitrosos, especialmente, nitrato são comumente encontrados em águas residuais, domésticas e industriais (WANG et al, 2012).

O seu descarte direto aos corpos d'água naturais podem causar sérios problemas ambientais como eutrofização. O nível máximo aceitável de nitrato na água potável pela World Health Organization (WHO, 2011) é definido como 50 mg/L. Assim, a remoção de nitrato de águas residuais antes do seu descarte nos corpos hídricos naturais é essencial.

O nitrogênio é um parâmetro importante na gestão de águas residuais porque pode causar impactos ecológicos e afetar a saúde pública. Suas principais formas são nitrogênio orgânico, amônia (NH_4^+ ou NH_3), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). Todas as formas de nitrogênio são absorvidas como nutriente pelas microalgas, mas os mais assimilados são amônia (NH_4^+) e nitrato (NO_3^-) (OLIVER e GANF, 2000).

De acordo com um estudo realizado por Daneshvar et al. (2018), a microalga *C. vulgaris* obteve uma eficiência na remoção de nitrato aumentada ligeiramente de 47% para 54,7% conforme a densidade do inóculo aumentou de 5% para 100% no quarto dia de ensaio. Segundo os autores, a densidade inicial do inóculo deve ser investigada como um outro fator que poderá influenciar na taxa de crescimento da microalga e conseqüentemente na eficiência de remoção do nitrato. Esse estudo ainda mostrou que a mudança na concentração dos nutrientes e a manutenção das condições como pH e salinidade (ou seja, condutividade) podem afetar o crescimento de algas e a eficiência de remoção de nitrato.

De acordo com estudos da literatura, diferentes espécies de microalgas podem apresentar maiores ou menores eficiências de redução da concentração do nitrogênio em suas diferentes formas presente no meio. Zhou et al. (2014) analisaram a remoção de nitrogênio total em águas residuais por quatro espécies de microalgas verdes de água doce, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*. Após 7 dias de experimento foi removido 76,7%, 88,9%, 91,7% e 92,3% de nitrogênio total por *C. reinhardtii*, *S. obliquus*, *C. pyrenoidosa* e *C. vulgaris*, respectivamente.

Em um outro estudo, Rao et al. (2011) realizaram um experimento com a microalga, *C. vulgaris* no tratamento do efluente de uma indústria química de processamento de couro na Índia. Após o tratamento em escala laboratorial a

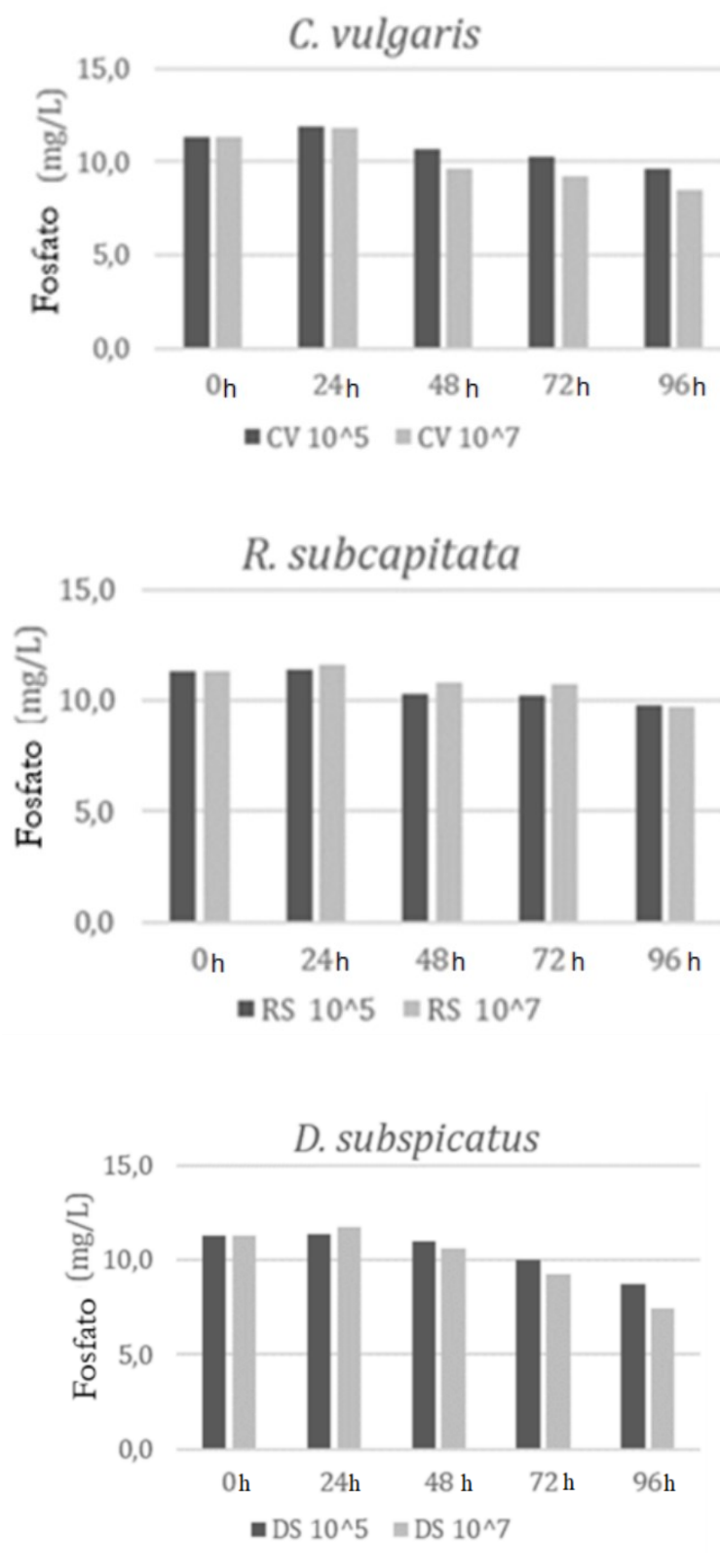
taxa de remoção para nitrogênio Kjeldahl total (TKN) foi de 73% e em estudo de campo em escala piloto foi de 74%. Já Arbib et al. (2014) realizou experimentos com as espécies de microalgas *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri* e uma floração natural. No final dos experimentos, em todos os reatores a remoção de nitrogênio total foi superior a 90% exceto para a floração natural na água residual sintética onde foi ligeiramente inferior, em 79%. Este comportamento era esperado, uma vez que a floração natural foi isolada a jusante da ETAR e, portanto, estava mais aclimatado para águas residuais urbanas do que para águas residuais sintética. Todas as cepas estudadas foram capazes de remover o nitrogênio total das águas residuais, e nenhuma diferença significativa foi observada entre os dois meios de cultura.

4.2.2. Remoção de fosfato

Após 96 h, a redução da concentração de fosfato nos bioensaios com 10^5 algas/mL foi de 23% ($2,6 \text{ mg L}^{-1}$) por *D. subspicatus*, 15% ($1,7 \text{ mg L}^{-1}$) por *C. vulgaris* e 13% ($1,5 \text{ mg L}^{-1}$) por *R. subcapitata*. Já nos bioensaios com maior densidade (10^7 algas/mL), a redução na concentração de fosfato foi de 34% ($3,8 \text{ mg L}^{-1}$) por *D. subspicatus*; e 25% ($2,8 \text{ mg L}^{-1}$) por *C. vulgaris* e 14% ($1,6 \text{ mg L}^{-1}$) por *R. subcapitata*.

Considerando todos os bioensaios, a remoção de fosfato foi em média 21% ($2,35 \text{ mg L}^{-1}$) e entre as espécies de microalgas, *D. subspicatus* apresentou a maior eficiência de remoção (34% ou $3,8 \text{ mg L}^{-1}$) na densidade de 10^7 algas/mL (Gráfico 3).

Gráfico 3: Decaimento da concentração de fosfato, ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas/mL.



Fonte: A autora, 2019

Gonzalez et al. (1997), relatou que as microalgas *C. vulgaris* e *Scenedesmus dimorphus* foram capazes de remover até 55% dos fosfatos de águas residuais de laticínios e suinocultura na Colômbia. Outra cepa de *Scenedesmus*, cultivado em águas residuais artificiais, obteve a taxa de remoção superior a 50% dos fosfatos (VOLTOLINA et al., 2004; VOLTOLINA et al., 2005).

Rao et al. (2011) realizaram um estudo com a microalga, *C. vulgaris* no tratamento do efluente de uma indústria química de processamento de couro na Índia. Após o tratamento em escala laboratorial a taxa de remoção de fosfato foi de 94% em estudo de campo, e em escala piloto foi de 99%. A remoção de fosfato por *C. vulgaris* durante a fitocorremediação foi devido à utilização de fósforo para o crescimento de suas células, principalmente para a produção de fosfolípidios, trifosfatos de adenosina (ATP) e ácidos nucleicos (BECKER, 1994).

Zhou et al. (2014) analisaram a remoção de fósforo em águas residuais por quatro espécies de microalgas verdes de água doce, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa* e *Chlorella vulgaris*. Após 7 dias de experimento foi removido 67,5%, 70,5%, 81,2% e 82,2% de fósforo total, respectivamente.

Sendo assim, embora neste estudo as microalgas tenham removido com eficiência o fósforo total (0,05 mg/L por dia), as taxas de remoção foram significativamente menores do que os valores relatados na literatura. Por exemplo para *C. vulgaris*, Lau et al. (1998) relatou 1,30 mg/L por dia para depleção de fósforo. Uma possível razão para o resultado encontrado por Zhou et al. (2014) é que o crescimento das algas foi limitado pelos baixos níveis de microelementos e fontes de carbono biologicamente disponíveis (HIROOKA et al., 2005).

Já segundo Arbib et al. (2014), no final dos experimentos a remoção de fósforo em todos os ensaios foi superior a 98%. Vale ressaltar que após as primeiras 25 h dos ensaios a concentração de fósforo sofre uma queda repentina, provavelmente devido à adsorção pela parede celular das microalgas.

As taxas de crescimento de diversas espécies de microalgas podem ser limitadas devido a baixas concentrações de nitrato e fosfato que interferem no

crescimento e metabolismo intracelular. Além disso, o fósforo é um nutriente essencial na formação de adenosina trifosfato (ATP) como energia transportadora em células de algas (EL-KASSAS, 2013).

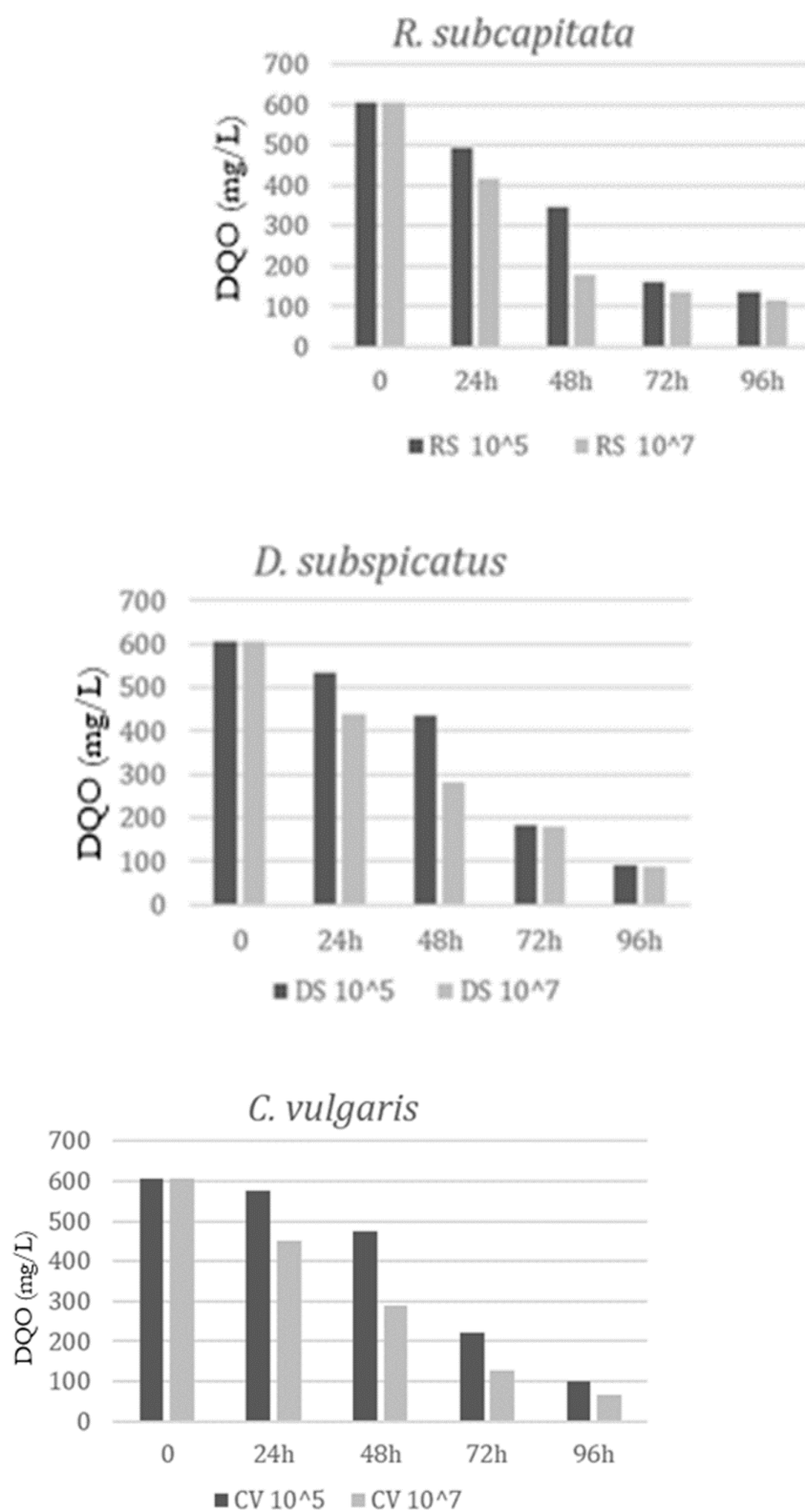
4.3. Biodegradação de compostos orgânicos

A eficiência na biodegradação da carga orgânica, avaliada como DQO para a densidade de 10^5 algas/mL, após 96h, foi de 85% (515 mg L^{-1}) por *D. subspicatus*, 84% ($507,5 \text{ mg L}^{-1}$) por *C. vulgaris* e 78% ($472,5 \text{ mg L}^{-1}$) por *R. subcapitata*.

Já nos bioensaios com maior densidade (10^7 algas/mL), a redução da carga orgânica foi de 89% ($538,7 \text{ mg L}^{-1}$) por *C. vulgaris*, 86% ($520,0 \text{ mg L}^{-1}$) por *D. subspicatus* e 81% ($492,5 \text{ mg L}^{-1}$) por *R. subcapitata*.

Considerando todos os bioensaios de 96h, a redução da DQO foi sempre superior a 78% e as maiores reduções da DQO também foram observadas nos bioensaios com 10^7 algas/ L (Gráfico 4).

Gráfico 4: Concentração da Demanda Química de Oxigênio (DQO), ao longo de 96 h, em bioensaios com três espécies de microalgas em duas densidades 10^5 algas/mL e 10^7 algas/mL.



Fonte: A autora, 2019.

Segundo a literatura (SALOMÃO, et al., 2012), o tanque de algas do sistema descentralizado de tratamento de esgoto ecossistema engenheirado com tempo de retenção hidráulica (TRH) de 10,7 h foi capaz de reduzir a DQO em 21%, ou seja, 14,1 mg/L. Um balanço de massa no tanque demonstrou uma capacidade de incorporação de carbono na biomassa seca de algas de 10,8 g/m² por dia.

De acordo com alguns estudos da literatura, alguns compostos orgânicos como os fármacos 17 α -etinilestradiol, levofloxacina e carbamazepina podem ser utilizados como fonte de carbono necessária para o crescimento de microalgas mixotróficas, como no caso de *C. vulgaris* e, portanto, podem não ter um efeito inibitório de crescimento (MAES et al., 2014; XIONG et al., 2017b).

Daneshvar et al. (2018), em estudo com *C. vulgaris* no uso de tratamento de efluentes revelaram que esta espécie de microalga foi capaz de usar carbono orgânico e reduzir fortemente as concentrações de DQO em águas residuais. Rao et al. (2011) também realizou um estudo com a microalga, *C. vulgaris*, porém no tratamento do efluente de uma indústria química de processamento de couro na Índia. Após o tratamento em escala laboratorial a taxa de redução da DQO foi de 38% em estudo de campo, e em escala piloto foi de 50%. Os valores obtidos de redução da DQO do efluente neste estudo foram atribuídos à alta taxa de crescimento de algas e a atividade fotossintética.

5. CONCLUSÃO

Através deste estudo foi possível avaliar a eficiência de remoção/biodegradação de alguns dos compostos geralmente presentes em efluentes domésticos e industriais e a consequente produção de biomassa pelas três espécies de microalgas verdes unicelulares (*C. vulgaris*, *D. subspicatus* e *R. subcapitata*).

Os resultados obtidos mostraram que a microalga *C. vulgaris*, ao longo das 96 h e na densidade inicial de 10^7 algas/mL, foi a espécie de microalga que apresentou a maior produção de biomassa (410 mg/L), a maior taxa de remoção de nitrogênio total (80%) e maior eficiência na biodegradação da carga orgânica (89%). Já a microalga *D. subspicatus*, ao longo das 96 h e na densidade inicial de 10^7 algas/mL, foi a espécie que promoveu a maior remoção de fosfato (3,8 mg/L).

Após avaliar os resultados da biodegradação de cada espécie de microalga, verificou-se que, apesar de algumas variações na eficiência de biodegradação/remoção de alguns compostos por cada espécie, a variável mais determinante para obter a maior eficiência foi o aumento da densidade inicial de algas no bioensaio.

Além disso vale ressaltar que a técnica de fitorremediação é uma alternativa promissora, por ter baixo custo de manutenção, não utilizar no seu processo substâncias químicas nocivas além de gerar biomassa que pode ser utilizada na produção de biocombustíveis, fertilizante e fixação de carbono (CO₂ atmosférico).

6. RECOMENDAÇÕES FUTURAS

De acordo com os resultados encontrados nos ensaios realizados neste trabalho, sugere-se, para estudos futuros, a realização de ensaios adicionais para avaliar parâmetros diferentes de exposição e variação nos cultivos das espécies de microalgas utilizadas. Assim, as próximas análises serão realizadas a partir de ensaios com ciclos diferentes de iluminação e cultivo misto das espécies de microalgas.

A hipótese a ser testada é que, ciclos de fotoperíodo com maior tempo de iluminação causarão aumento no crescimento da densidade celular das microalgas; e um cultivo com a adição das três espécies, potencializará a taxa de absorção/remoção dos compostos orgânicos e inorgânicos, presentes no meio, pelas microalgas, além de aumentar a produção de biomassa destas espécies de microalgas, fornecendo uma quantidade maior de matéria prima para a produção de biocombustíveis ou para a sua utilização no setor industrial como bioprodutos de interesse comercial.

REFERÊNCIAS

- 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, 2012.
- ABD RAHAMAN, M. S., CHENG, L. H., XU, X. H., ZHANG, L., & CHEN, H. L. (2011). A review of carbon dioxide capture and utilization by membrane integrated microalgal cultivation processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(8), 4002-4012.
- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*) - NBR 12648:2018. Rio de Janeiro, Brasil: [s.n.].
- ACIÉN, F. G., GÓMEZ-SERRANO, C., MORALES-AMARAL, M. D. M., FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M., & MOLINA-GRIMA, E. (2016). Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment?. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(21), 9013-9022.
- ADESANYA, V. O., DAVEY, M. P., SCOTT, S. A., & SMITH, A. G. (2014). Kinetic modelling of growth and storage molecule production in microalgae under mixotrophic and autotrophic conditions. *Bioresource technology*, 157, 293-304.
- ANA. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS. Atlas esgotos: despoluição de bacias hidrográficas. Brasília, 2017.
- AHN, YOUNG-HO. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. *Process Biochemistry*, v. 41, n. 8, p. 1709-1721, 2006.
- ARAVANTINO, ANDRIANA F.; THEODORAKOPOULOS, MARIOS A.; MANARIOTIS, IOANNIS D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. *Bioresource technology*, v. 147, p. 130-134, 2013.
- ARBIB, Z., RUIZ, J., ÁLVAREZ-DÍAZ, P., GARRIDO-PEREZ, C., & PERALES, J. A. (2014). Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production. *Water research*, 49, 465-474.

ARENSBERG, PIA; HEMMINGSEN, VICKY H.; NYHOLM, NIELS. A miniscale algal toxicity test. *Chemosphere*, v. 30, n. 11, p. 2103-2115, 1995.

ARIZA, ANGÉLICA RADA. Photo-Activated Sludge: a novel algal-bacterial biotreatment for nitrogen removal from wastewater. Wageningen University and Research, 2018.

AQUINO, SÉRGIO FRANCISCO DE; BRANDT, EMANUEL MANFRED FREIRE; CHERNICHARO, CARLOS AUGUSTO DE LEMOS. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 18, p. 187-204, 2013.

BĄŚCIK-REMISIEWICZ, A., AKSMANN, A., ŻAK, A., KOWALSKA, M., & TUKAJ, Z. (2011). Toxicity of cadmium, anthracene, and their mixture to *Desmodesmus subspicatus* estimated by algal growth-inhibition ISO standard test. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 60(4), 610-617.

BATISTA, A. P., GOUVEIA, L., BANDARRA, N. M., FRANCO, J. M., & RAYMUNDO, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Research*, 2(2), 164-173.

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

BECKER, E. WOLFGANG. 18 microalgae in human and animal nutrition. In: *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Wiley Online Library, 2004.

BILA, DANIELE MAIA; DEZOTTI, MÁRCIA. Fármacos no meio ambiente. *Química nova*, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BOELEE, N. C., JANSSEN, M., TEMMINK, H., SHRESTHA, R., BUISMAN, C. J. N., & WIJFFELS, R. H. (2014). Nutrient removal and biomass production in an outdoor pilot-scale phototrophic biofilm reactor for effluent polishing. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(1), 405-422.

CAI, TING; PARK, STEPHEN Y.; LI, YEBO. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 19, p. 360-369, 2013.

CARBALLA, MARTA et al. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics, and hormones in a sewage treatment plant. *Water research*, v. 38, n. 12, p. 2918-2926, 2004.

CARVALHO, ANA P. et al. Metabolic relationships between macro-and micronutrients, and the eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid contents of *Pavlova lutheri*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 38, n. 3-4, p. 358-366, 2006.

CHEKROUN, KAOUTAR BEN; SÁNCHEZ, ESTEBAN; BAGHOUR, MOURAD. The role of algae in bioremediation of organic pollutants. *J. Iss. ISSN*, v. 2360, p. 8803, 2014.

CHISLOCK, MICHAEL F. et al. Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education Knowledge*, v. 4, n. 4, p. 10, 2013.

CHOI, HEE-JEONG; LEE, SEUNG-MOK. Heavy metal removal from acid mine drainage by calcined eggshell and microalgae hybrid system. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 22, n. 17, p. 13404-13411, 2015.

CONVERTI, ATTILIO et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, v. 48, n. 6, p. 1146-1151, 2009.

DANESHVAR, E., ANTIKAINEN, L., KOUTRA, E., KORNAROS, M., & BHATNAGAR, A. Investigation on the feasibility of *Chlorella vulgaris* cultivation in a mixture of pulp and aquaculture effluents: Treatment of wastewater and lipid extraction. *Bioresource technology*, v. 255, p. 104-110, 2018.

D'ASCENZO, G. et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Science of the Total Environment*, v. 302, n. 1-3, p. 199-209, 2003.

DANQUAH, MICHAEL K. et al. Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering efficiency. *Chemical Engineering Journal*, v. 151, n. 1-3, p. 73-78, 2009.

DE-BASHAN, LUZ E.; BASHAN, YOAV. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects. *Bioresource technology*, v. 101, n. 6, p. 1611-1627, 2010.

DE LLASERA, MARTHA PATRICIA GARCÍA et al. Biodegradation of benzo (a) pyrene by two freshwater microalgae *Selenastrum capricornutum* and *Scenedesmus acutus*: a comparative study useful for bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, n. 4, p. 3365-3375, 2016.

DEMIRBAS, M. FATIH. Biofuels from algae for sustainable development. *Applied energy*, v. 88, n. 10, p. 3473-3480, 2011.

DIXIT, SONAL; SINGH, D. P. An evaluation of phycoremediation potential of cyanobacterium *Nostoc muscorum*: characterization of heavy metal removal efficiency. *Journal of Applied Phycology*, v. 26, n. 3, p. 1331-1342, 2014.

EL-KASSAS, HALA YASSIN. Growth and fatty acid profile of the marine microalga *Picochlorum* sp. grown under nutrient stress conditions. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, v. 39, n. 4, p. 233-239, 2013.

ELLIS, JOSHUA T. et al. Acetone, butanol, and ethanol production from wastewater algae. *Bioresource technology*, v. 111, p. 491-495, 2012.

ESTEBAN, S. et al. Analysis and occurrence of endocrine-disrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain. *Science of the Total Environment*, v. 466, p. 939-951, 2014.

FARHADIAN, MEHRDAD et al. In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: a review. *Bioresource technology*, v. 99, n. 13, p. 5296-5308, 2008.

GARCÍ, MC CERÓN et al. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricorutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profile. *Journal of Applied Phycology*, v. 12, n. 3, p. 239-248, 2000.

GIRARD, JEAN-MICHEL et al. Mixotrophic cultivation of green microalgae *Scenedesmus obliquus* on cheese whey permeate for biodiesel production. *Algal Research*, v. 5, p. 241-248, 2014.

GONZÁLEZ, LUZ ESTELA; CAÑIZARES, ROSA OLIVIA; BAENA, SANDRA. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a *Colombian agroindustrial*

wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*. *Bioresource technology*, v. 60, n. 3, p. 259-262, 1997.

GRANADOS, M. R. et al. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. *Bioresource technology*, v. 118, p. 102-110, 2012.

GUIEYSSE, BENOIT et al. Influence of the initial composition of algal-bacterial microcosms on the degradation of salicylate in a fed-batch culture. *Biotechnology letters*, v. 24, n. 7, p. 531-538, 2002.

GUIL-GUERRERO, J. L. et al. Functional properties of the biomass of three microalgal species. *Journal of food engineering*, v. 65, n. 4, p. 511-517, 2004.

HANSDA, ARTI et al. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 32, n. 10, p. 1-14, 2016.

HANUMANTHA RAO, P. et al. Application of phycoremediation technology in the treatment of wastewater from a leather-processing chemical manufacturing facility. *Water Sa*, v. 37, n. 1, 2011.

HASHEMIAN, MAHSA et al. Production of microalgae-derived high-protein biomass to enhance food for animal feedstock and human consumption. In: *Advanced bioprocessing for alternative fuels, biobased chemicals, and bioproducts*. Woodhead Publishing, 2019. p. 393-405.

HE, NING et al. Removal and biodegradation of nonylphenol by four freshwater microalgae. *International journal of environmental research and public health*, v. 13, n. 12, p. 1239, 2016.

HIROOKA, TAKASHI et al. Removal of hazardous phenols by microalgae under photoautotrophic conditions. *Journal of bioscience and bioengineering*, v. 95, n. 2, p. 200-203, 2003.

HIROOKA, TAKASHI et al. Biodegradation of bisphenol A and disappearance of its estrogenic activity by the green alga *Chlorella fusca var. vacuolata*. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 24, n. 8, p. 1896-1901, 2005.

HO, SHIH-HSIN et al. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems—a review. *Biotechnology advances*, v. 29, n. 2, p. 189-198, 2011.

HOM-DIAZ, ANDREA et al. Microalgae cultivation on wastewater digestate: β -estradiol and 17 α -ethynylestradiol degradation and transformation products identification. *Journal of environmental management*, v. 155, p. 106-113, 2015.

HU, YI-RU et al. Efficient harvesting of marine microalgae *Nannochloropsis maritima* using magnetic nanoparticles. *Bioresource technology*, v. 138, p. 387-390, 2013.

HUANG, GUANHUA et al. Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied energy*, v. 87, n. 1, p. 38-46, 2010.

HUGHES, STEPHEN R.; KAY, PAUL; BROWN, LEE E. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. *Environmental science & technology*, v. 47, n. 2, p. 661-677, 2013.

JI, MIN-KYU et al. Effect of mine wastewater on nutrient removal and lipid production by a green microalga *Micratinium reisseri* from concentrated municipal wastewater. *Bioresource technology*, v. 157, p. 84-90, 2014.

JI, XIYAN et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater. *Bioresource technology*, v. 247, p. 44-50, 2018.

KABIR, EVA RAHMAN; RAHMAN, MONICA SHARFIN; RAHMAN, IMON. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental toxicology and pharmacology*, v. 40, n. 1, p. 241-258, 2015.

KAPLAN, DRORA. Absorption and adsorption of heavy metals by microalgae. *Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology*, v. 2, p. 602-611, 2013.

KHAN, SHAKEEL A. et al. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 13, n. 9, p. 2361-2372, 2009.

KIM, HYUN-CHUL et al. Evaluating integrated strategies for robust treatment of high saline piggery wastewater. *Water research*, v. 89, p. 222-231, 2016.

KOLPIN, DANA W. et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999– 2000: A national

reconnaissance. *Environmental science & technology*, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.

KUMAR, KANHAIYA et al. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource technology*, v. 102, n. 8, p. 4945-4953, 2011.

LACERDA, LUCY MARA CACIA FERREIRA et al. Improving refinery wastewater for microalgal biomass production and CO₂ biofixation: Predictive modeling and simulation. *Journal of petroleum science and engineering*, v. 78, n. 3-4, p. 679-686, 2011.

LAI, K. M.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Biotransformation and bioconcentration of steroid estrogens by *Chlorella vulgaris*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 2, p. 859-864, 2002.

LAM, MAN KEE; LEE, KEAT TEONG; MOHAMED, ABDUL RAHMAN. Current status and challenges on microalgae-based carbon capture. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, v. 10, p. 456-469, 2012.

LAPWORTH, D. J. et al. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate, and occurrence. *Environmental pollution*, v. 163, p. 287-303, 2012.

LAU, P. S.; TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. Effect of carrageenan immobilization on the physiological activities of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource technology*, v. 63, n. 2, p. 115-121, 1998.

LEI, BINGLI et al. Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tianjin area, China. *Chemosphere*, v. 76, n. 1, p. 36-42, 2009.

LIANG, YANNA. Producing liquid transportation fuels from heterotrophic microalgae. *Applied Energy*, v. 104, p. 860-868, 2013.

LIM, SING-LAI; CHU, WAN-LOY; PHANG, SIEW-MOI. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource technology*, v. 101, n. 19, p. 7314-7322, 2010.

LIN, QIANG; LIN, JUNDA. Effects of nitrogen source and concentration on biomass and oil production of a *Scenedesmus rubescens* like microalga. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 2, p. 1615-1621, 2011.

LIU, LU; POHNERT, GEORG; WEI, DONG. Extracellular metabolites from industrial microalgae and their biotechnological potential. *Marine drugs*, v. 14, n. 10, p. 191, 2016.

LIU, WEIJIE et al. Removal and biodegradation of 17 β -estradiol and diethylstilbestrol by the freshwater microalgae *Raphidocelis subcapitata*. *International journal of environmental research and public health*, v. 15, n. 3, p. 452, 2018.

MAES, HANNA MAJA et al. Uptake, elimination, and biotransformation of 17 α -ethinylestradiol by the freshwater alga *Desmodesmus subspicatus*. *Environmental science & technology*, v. 48, n. 20, p. 12354-12361, 2014.

MAHAPATRA, DURGA MADHAB; CHANAKYA, H. N.; RAMACHANDRA, T. V. Treatment efficacy of algae-based sewage treatment plants. *Environmental monitoring and assessment*, v. 185, n. 9, p. 7145-7164, 2013.

MATA, TERESA M.; MARTINS, ANTONIO A.; CAETANO, NIDIA S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

METTING, F. B. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of industrial microbiology*, v. 17, n. 5, p. 477-489, 1996.

MOLINA-CÁRDENAS, CERES A.; DEL PILAR SÁNCHEZ-SAAVEDRA, M.; LIZÁRRAGA-PARTIDA, MARCIAL L.. Inhibition of pathogenic *Vibrio* by the microalgae *Isochrysis galbana*. *Journal of applied phycology*, v. 26, n. 6, p. 2347-2355, 2014.

MUÑOZ, RAUL et al. Photosynthetically oxygenated acetonitrile biodegradation by an algal-bacterial microcosm: a pilot-scale study. *Water science and technology*, v. 51, n. 12, p. 261-265, 2005.

MUNOZ, RAUL; GUIEYSSE, BENOIT. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water research*, v. 40, n. 15, p. 2799-2815, 2006.

NAKADA, NORIHIDE et al. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand

filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. *Water research*, v. 41, n. 19, p. 4373-4382, 2007.

NAYAK, MANORANJAN; KAREMORE, ANKUSH; SEN, RAMKRISHNA. Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. *Algal Research*, v. 16, p. 216-223, 2016.

NIE, MINGHUA et al. Environmental estrogens in a drinking water reservoir area in Shanghai: occurrence, colloidal contribution, and risk assessment. *Science of the total environment*, v. 487, p. 785-791, 2014.

NIE, MINGHUA et al. Occurrence, distribution, and risk assessment of estrogens in surface water, suspended particulate matter, and sediments of the Yangtze Estuary. *Chemosphere*, v. 127, p. 109-116, 2015.

NORVILL, ZANE N.; SHILTON, ANDY; GUIEYSSE, BENOIT. Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: identifying the research gaps. *Journal of hazardous materials*, v. 313, p. 291-309, 2016.

NURRA, CLAUDIA et al. Vibrating membrane filtration as improved technology for microalgae dewatering. *Bioresource technology*, v. 157, p. 247-253, 2014.

OEHMEN, ADRIAN et al. Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale. *Water research*, v. 41, n. 11, p. 2271-2300, 2007.

OGBONNA, JAMES C.; YOSHIZAWA, HITOSHI; TANAKA, HIDEO. Treatment of high strength organic wastewater by a mixed culture of photosynthetic microorganisms. *Journal of Applied Phycology*, v. 12, n. 3, p. 277-284, 2000.

OLGUÍN, EUGENIA J.. Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology advances*, v. 22, n. 1-2, p. 81-91, 2003.

OLGUÍN, EUGENIA 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.

OLIVER, RODERICK L.; GANF, GEORGE G. Freshwater blooms. In: *The ecology of cyanobacteria*. Springer, Dordrecht, 2000. p. 149-194.

OTA, MASAKI et al. Effects of nitrate and oxygen on photoautotrophic lipid production from *Chlorococcum littorale*. *Bioresource technology*, v. 102, n. 3, p. 3286-3292, 2011.

PACHECO, MARCONDES M. et al. Microalgae: cultivation techniques and wastewater phycoremediation. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 50, n. 6, p. 585-601, 2015.

PAVLIC, Z. et al. Comparative sensitivity of green algae to herbicides using Erlenmeyer flask and microplate growth-inhibition assays. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 76, n. 5, p. 883-890, 2006.

PRAJAPATI, SANJEEV KUMAR et al. Phycoremediation coupled production of algal biomass, harvesting and anaerobic digestion: possibilities and challenges. *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 8, p. 1408-1425, 2013.

PRANDINI, JEAN MICHEL et al. Enhancement of nutrient removal from swine wastewater digestate coupled to biogas purification by microalgae *Scenedesmus* spp. *Bioresource Technology*, v. 202, p. 67-75, 2016.

PRAVEENA, SARVA MANGALA et al. Occurrence of selected estrogenic compounds and estrogenic activity in surface water and sediment of Langat River (Malaysia). *Environmental monitoring and assessment*, v. 188, n. 7, p. 1-11, 2016.

PEREZ-GARCIA, OCTAVIO et al. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water research*, v. 45, n. 1, p. 11-36, 2011.

PIRES, J. C. M. et al. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 16, n. 5, p. 3043-3053, 2012.

PITTMAN, JON K.; DEAN, ANDREW P.; OSUNDEKO, OLUMAYOWA. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource technology*, v. 102, n. 1, p. 17-25, 2011.

POWELL, NICOLA et al. Towards a luxury uptake process via microalgae—defining the polyphosphate dynamics. *Water research*, v. 43, n. 17, p. 4207-4213, 2009.

RAO, POLUR et al. Application of phycoremediation technology in the treatment of wastewater from a leather-processing chemical manufacturing facility. *Water Sa*, v. 37, n. 1, 2011.

RAZZAK, SHAIKH A. et al. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—a review. *Renewable and sustainable energy reviews*, v. 27, p. 622-653, 2013.

RAWAT, I. et al. Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied energy*, v. 88, n. 10, p. 3411-3424, 2011.

RICHARDS, R. G.; MULLINS, B. J. Using microalgae for combined lipid production and heavy metal removal from leachate. *Ecological modelling*, v. 249, p. 59-67, 2013.

ROCHA, SÓNIA et al. Occurrence of bisphenol A, estrone, 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol in Portuguese Rivers. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 90, n. 1, p. 73-78, 2013.

RUIZ, J. et al. Influence of light presence and biomass concentration on nutrient kinetic removal from urban wastewater by *Scenedesmus obliquus*. *Journal of biotechnology*, v. 178, p. 32-37, 2014.

RUIZ-MARTINEZ, ANA et al. Microalgae cultivation in wastewater: nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. *Bioresource technology*, v. 126, p. 247-253, 2012.

SAAVEDRA, RICARDO et al. Comparative uptake study of arsenic, boron, copper, manganese, and zinc from water by different green microalgae. *Bioresource Technology*, v. 263, p. 49-57, 2018.

SALOMÃO, A. L. S. et al. Engineered ecosystem for on-site wastewater treatment in tropical areas. *Water Science Technology*, v. 66, n. 10, p. 2131–2137, 2012.

SALOMÃO, A. L. S. et al. Effects of single and mixed estrogens on single and combined cultures of *D. subspicatus* and *P. subcapitata*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, v. 93, n. 2, p. 215-221, 2014.

SILVA, C. G. A. et al. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. *Química Nova*, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

SINGH, NIRBHAY KUMAR; DHAR, DOLLY WATTAL. Microalgae as second-generation biofuel. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 31, n. 4, p. 605-629, 2011.

SINGH, POONAM et al. Combined metals and EDTA control: an integrated and scalable lipid enhancement strategy to alleviate biomass constraints in microalgae under nitrogen limited conditions. *Energy Conversion and Management*, v. 114, p. 100-109, 2016.

SHEN, YU; GAO, JINGQING; LI, LINSHUAI. Municipal wastewater treatment via co-immobilized microalgal-bacterial symbiosis: microorganism growth and nutrients removal. *Bioresource Technology*, v. 243, p. 905-913, 2017.

SIVAKUMAR, GANAPATHY et al. Integrated green algal technology for bioremediation and biofuel. *Bioresource technology*, v. 107, p. 1-9, 2012.

SPOLAORE, PAULINE et al. Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering*, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

SU, YANYAN; MENNERICH, ARTUR; URBAN, BRIGITTE. Coupled nutrient removal and biomass production with mixed algal culture: impact of biotic and abiotic factors. *Bioresource Technology*, v. 118, p. 469-476, 2012.

SUTHERLAND, DONNA L.; RALPH, PETER J. Microalgal bioremediation of emerging contaminants-Opportunities and challenges. *Water research*, v. 164, p. 114921, 2019.

SYDNEY, EB d et al. Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. *Applied Energy*, v. 88, n. 10, p. 3291-3294, 2011.

TANG, JANET YM et al. Mixture effects of organic micropollutants present in water: Towards the development of effect-based water quality trigger values for baseline toxicity. *Water research*, v. 47, n. 10, p. 3300-3314, 2013.

THOMAS, D. N.; DIECKMANN, G. S. Antarctic Sea ice--a habitat for extremophiles. *Science*, v. 295, n. 5555, p. 641-644, 2002.

VALDERRAMA, LUZ T. et al. Treatment of recalcitrant wastewater from ethanol and citric acid production using the microalga *Chlorella vulgaris* and the macrophyte *Lemna minuscula*. *Water research*, v. 36, n. 17, p. 4185-4192, 2002.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, YEOUNG-SANG. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology advances*, v. 26, n. 3, p. 266-291, 2008.

VOLTOLINA, D.; GOMEZ-VILLA, H.; CORREA, G. Biomass production and nutrient removal in semicontinuous cultures of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) in artificial wastewater, under a simulated day-night cycle. *Vie et Milieu/Life & Environment*, p. 21-25, 2004.

VOLTOLINA, DOMENICO; GÓMEZ-VILLA, HERLINDA; CORREA, GABRIEL. Nitrogen removal and recycling by *Scenedesmus obliquus* in semicontinuous cultures using artificial wastewater and a simulated light and temperature cycle. *Bioresource technology*, v. 96, n. 3, p. 359-362, 2005.

ZHANG, XIAN et al. Estrogenic compounds and estrogenicity in surface water, sediments, and organisms from Yundang Lagoon in Xiamen, China. *Archives of environmental contamination and toxicology*, v. 61, n. 1, p. 93-100, 2011.

ZHANG, YONGLI et al. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 2, n. 11, p. 2544-2553, 2014.

ZHOU, GUANG-JIE et al. Simultaneous removal of inorganic and organic compounds in wastewater by freshwater green microalgae. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 16, n. 8, p. 2018-2027, 2014.

WANG, HAIYING et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* with diluted primary piggery wastewater to produce lipids. *Bioresource Technology*, v. 104, p. 215-220, 2012.

WANG, YUE et al. Cultivation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 with swine wastewater for simultaneous nutrient/COD removal and carbohydrate production. *Bioresource technology*, v. 198, p. 619-625, 2015.

WANG, YUE et al. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. *Bioresource technology*, v. 222, p. 485-497, 2016.

WANG, YINGHUI et al. Removal of pharmaceuticals and personal care products from wastewater using algae-based technologies: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 16, n. 4, p. 717-735, 2017.

WILDE, EDWARD W.; BENEMANN, JOHN R. Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotechnology advances*, v. 11, n. 4, p. 781-812, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, *Guidelines for Drinking-water Quality*, World Health Organization, Geneva, 2011.

WU, ZECHEN et al. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. *Bioresource technology*, v. 110, p. 496-502, 2012.

XIN, LI et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource technology*, v. 101, n. 14, p. 5494-5500, 2010.

XIONG, JIU-QIANG et al. Ciprofloxacin toxicity and its co-metabolic removal by a freshwater microalga *Chlamydomonas mexicana*. *Journal of hazardous materials*, v. 323, p. 212-219, 2017a.

XIONG, JIU-QIANG; KURADE, MAYUR B.; JEON, BYONG-HUN. Biodegradation of levofloxacin by an acclimated freshwater microalga, *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Journal*, v. 313, p. 1251-1257, 2017b.