

Remoção de nutrientes em sistema simbiótico microalga-bactéria: influência da adição de CO₂, O₂ e tipo de cultura

Removal of nutrients in microalgae-bacteria symbiotic system: influence of the addition of CO₂, O₂ and culture type

• **Data de entrada:**
07/08/2020


• **Data de aprovação:**
04/05/2022

Sarah Lacerda Farias^{1*} | Grazielle Ruas^{2,3} | Mayara Leite Serejo⁴ | Marc Árpád Boncz¹


DOI: <https://doi.org/10.36659/dae.2023.029>

ORCID ID

Farias SL  <https://orcid.org/0000-0002-5739-3154>

Ruas G  <https://orcid.org/0000-0002-0160-7985>

Serejo ML  <https://orcid.org/0000-0002-7892-2350>

Boncz MA  <https://orcid.org/0000-0001-7618-8685>

Resumo

O trabalho teve a finalidade de avaliar quais tipos de cultivo e condições operacionais são mais eficientes na remoção de nutrientes do esgoto doméstico primário em sistemas de microalgas-bactérias. Para isso, diferentes condições experimentais foram estudadas utilizando como inóculo microalgas e/ou bactérias bem como o efeito da luz e a adição de gases (gás carbônico e ar atmosférico). As remoções foram mais expressivas nos fotobiorreatores inoculados com microalgas (com predominância de *Chlorella vulgaris*) e bactérias, em presença de luz. Além disso, as condições que receberam suplementação de gás (MB+CO₂ e MB+O₂) obtiveram remoções superiores às demais condições, em relação ao nitrogênio total (93 ± 0,2% e 95 ± 1,8%, respectivamente), carbono orgânico total (84 ± 0,2 e 86 ± 0,1%) e carbono inorgânico (95 ± 0,7 e 95 ± 0,3%). Por fim, foram também nestas condições que se obtiveram os melhores resultados de crescimento da biomassa, com produtividade máxima de 179 e 267 mgSST L⁻¹ d⁻¹.

Palavras-chave: Carbono. *Chlorella vulgaris*. Fósforo. Nitrogênio. Tratamento de efluentes.

Abstract

*This work evaluated which types of cultivation and operational conditions are more efficient in removing nutrients from the primary domestic sewage in microalgae-bacteria systems. For this, different experimental conditions were studied using microalgae and / or bacteria as an inoculum as well as the effect of light and the addition of gases (carbon dioxide and atmospheric air). The removals were more expressive in the photobioreactors inoculated with microalgae (predominantly *Chlorella vulgaris*) and bacteria, in the presence of light. In addition, the conditions that received gas supplementation (MB+ CO₂ and MB + O₂), obtained higher removals than the other conditions, in relation to total nitrogen (93 ± 0.2% and 95 ± 1.8%, respectively), total organic carbon (84 ± 0.2 and 86 ± 0.1%) and inorganic carbon (95 ± 0.7 and 95 ± 0.3%). Finally, it was also under these conditions that the best biomass growth results were obtained, with maximum productivity of 179 and 267 mgSST L⁻¹ d⁻¹.*

Keywords: Carbon. *Chlorella vulgaris*. Nitrogen. Phosphorus. Wastewater treatment.

¹ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) - Campo Grande - Mato Grosso do Sul - Brasil.

² Instituto Federal de Mato Grosso do Sul (IFMS) - Campus Jardim - Mato Grosso do Sul - Brasil.

³ Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Bauru - São Paulo - Brasil.

⁴ Instituto Federal de Mato Grosso do Sul (IFMS) - Aquidauana - Mato Grosso do Sul - Brasil.

* **Autora correspondente:** sarahfarias1@gmail.com.

1 INTRODUÇÃO

O despejo incontrolado de esgotos doméstico e industrial causa inúmeros impactos para os ecossistemas aquáticos. As altas concentrações de carbono (C) e nutrientes como nitrogênio (N) e fósforo (P) presentes nos esgotos podem causar depleção de oxigênio dissolvido, toxicidade e eutrofização nos corpos d'água (GARCÍA, ALCÁNTARA, et al., 2017, LIU, FAN, et al., 2017, POSADAS, MORALES, et al., 2015). Além disso, tratamentos convencionais de efluentes apresentam limitações de eficiência ou de altos custos na remoção de N e P (CHAUDHARY, TONG, et al., 2017, DE-BASHAN, BASHAN, 2010). Nesse cenário, as tecnologias de tratamento baseadas em microalgas têm recebido atenção considerável nos últimos anos, devido à eficácia na remoção de diversos poluentes, incluindo esses nutrientes (MATAMOROS, GUTIÉRREZ, et al., 2015, RUAS, SEREJO, et al., 2018). A alta tolerância a condições ambientais adversas, tais como altas concentrações de nutrientes e carbono orgânico, e capacidade de crescimento e produção de biomassa nessas condições, tornam esses sistemas vantajosos (ARAVANTINOU, THEODORAKOPOULOS, et al., 2013, GARCÍA, ALCÁNTARA, et al., 2017, WANG, Yue, HO, et al., 2016)

A biomassa algal obtida com essa tecnologia pode ser recuperada e utilizada na produção de biocombustíveis, fertilizantes, ração animal, produtos alimentares e biogás (MUÑOZ, GUIEYSSE, 2006, SEREJO, POSADAS, et al., 2015). Essa tecnologia é, portanto, uma alternativa na geração de energia limpa, que em conjunto com a capacidade de fixação de CO₂ pelas microalgas contribui para a mitigação de emissão do gás do efeito estufa, tornando-a ainda mais atrativa (GONÇALVES, A.L., SIMÕES, et al., 2014, KOREIVIEN, VAL, et al., 2014).

O sistema simbiótico de microalgas e bactérias potencializa a eficiência do tratamento e produtividade de biomassa, tendo em vista que supera

as insuficiências do tratamento operado somente com microalgas (WANG, Yue, HO, et al., 2016). A interação entre os dois organismos é complexa, mas pode ser esquematizada pela atuação das microalgas na assimilação dos nutrientes e fixação fotossinteticamente do CO₂ fornecido pelas bactérias heterotróficas, que por sua vez utilizam o O₂ produzido na fotossíntese para mineralizar os poluentes orgânicos (GONÇALVES, Ana L, PIRES, et al., 2016, MUÑOZ, GUIEYSSE, 2006, NAGARAJAN, LEE, et al., 2020).

Vários fatores podem influenciar a eficiência de tratamento no sistema simbiótico microalgas-bactérias como pH, relação de nutrientes para o crescimento da biomassa, iluminação, oxigênio dissolvido, tempo de detenção hidráulica (TDH), entre outros (LIU, FAN, et al., 2017). Avaliar esses parâmetros é essencial para otimizar a remoção dos poluentes e a produtividade da biomassa, pois afeta os mecanismos de remoção fazendo com que os nutrientes sejam assimilados pela biomassa, assim como também volatilizados ou precipitados (ALCÁNTARA, POSADAS, et al., 2015). Por exemplo, a baixa relação C/N dos esgotos domésticos pode ocasionar uma deficiência de carbono, considerando a proporção de composição de biomassa algal-bacteriana (C/N de ≈ 5,6), prejudicando a remoção de nutrientes nesses sistemas; assim, a adição de CO₂ pode ajudar a potencializar seu desempenho (POSADAS, MORALES, et al., 2015). A suplementação de carbono também permite o controle do pH, impedindo a inibição do crescimento das microalgas por amônia e a perda indireta dos nutrientes por volatilização (PARK, CRAGGS, 2010). Dessa forma, é crucial o estudo das condições de cultivo de forma a aprimorar a remoção de nutrientes e produção de biomassa.

Assim, o objetivo do trabalho foi determinar a influência do tipo de cultura (microalgas e/ ou bactérias) e da adição de CO₂ e ar atmosférico (O₂) no tratamento de esgoto doméstico primário, visando à remoção de nutrientes.

2 METODOLOGIA

2.1 Esgoto Doméstico Primário e Mistura de Gás Sintético

Foi utilizado esgoto doméstico primário (EDP) proveniente de uma Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Os valores iniciais de pH, Demanda Química de Oxigênio (DQO), Carbono Inorgânico (CI), Carbono Orgânico Total, (COT), Carbono Total (CT), Nitrogênio Total (NT), íon amônio (N-NH₄⁺) e Fósforo (P-PO₄³⁻) estão resumidos na Tabela 1.

Como fonte de CO₂ foi utilizada uma Mistura de Gás Sintético (MGA) composta por CO₂ (30%) e N₂ (70%) (White Martins, Brasil); já como fonte de O₂ foi utilizado ar atmosférico (≈ 20% de O₂, ≈ 78% N₂ e ≈ 360 ppm de CO₂) (BRIMBLECOMBE, 1996).

Tabela 1 - Composição físico-química inicial do esgoto doméstico primário.

Parâmetro	Unidade	Valor
pH	-	7,23
DQO	mg O ₂ L ⁻¹	195
CI	mg CL ⁻¹	219
COT	mg CL ⁻¹	364
CT	mg CL ⁻¹	583
NT	Mg N L ⁻¹	636
N-NH ₄ ⁺	mg N-NH ₄ ⁺ L ⁻¹	30
P	mg P-PO ₄ ³⁻ L ⁻¹	5,2

2.2 Microrganismos e condições de cultura

As microalgas utilizadas no experimento foram coletadas em uma lagoa de armazenamento de vinhaça de uma indústria de açúcar e álcool localizada em Mato Grosso do Sul (Brasil) e adaptadas ao esgoto doméstico primário em Erlenmeyers de 1,0 L incubados a 30 °C, 200 rpm, fotoperíodo de 16:8 horas (luz:escuro) e luminosidade de 61 ± 6 μE m⁻² s⁻¹, de acordo com Serejo et al., (2015). A principal microalga identificada no consórcio adaptado ao esgoto doméstico foi a *Chlorella vulgaris* (≈ 97%). As bactérias nitrificantes-desnitrificantes foram provenientes de lodo

ativado aeróbio de uma ETE de Campo Grande (Mato Grosso do Sul, Brasil).

2.3 Design experimental e condições operacionais

Os experimentos laboratoriais em batelada foram realizados em frascos de vidro (Fotobiorreator - FBR) com volume útil de 500 mL e em duplicata. As diferentes condições de cultivo estão descritas na Tabela 2. Nas condições apenas com microalgas (M), os FBRs foram preenchidos com 480 mL de EDP e 20 mL de cultura de microalgas, com concentração de 0,15 g L⁻¹ de sólidos suspensos totais (SST). Já nas condições simbióticas, os FBRs foram preenchidos com 460 mL de EDP, 20 mL de cultura de microalgas e 20 mL de bactérias nitrificantes-desnitrificantes (B), com concentração de 0,15 gSST L⁻¹.

Para a condição MB+CO₂, foi utilizada uma vazão de 1,4 mL min⁻¹ de gás de mistura sintética (GMS), o que corresponde a 604 mL.d⁻¹ de dióxido de carbono (Bomba de alimentação Watson Marlon 505U, UK). A condição MB+O₂ recebeu alimentação contínua de ar atmosférico a uma taxa de 140 mL min⁻¹, o equivalente a 40,3 L d⁻¹ de O₂ e 81 mL d⁻¹ de CO₂ (bomba Sallon Better, Brasil). Nessas condições foram adicionados lavadores de gás com água para evitar a evaporação do meio de cultivo.

Os frascos foram mantidos em uma câmara de incubação termostatizada, com iluminação artificial por refletor de LED (100 W branco frio) de ≈ 597 μE m⁻².s⁻¹ (257 ± 22 lux), agitação constante de 200 rpm e temperatura de 30 ± 1°C. O fotoperíodo foi de 16:8 horas luz:escuro (com exceção do frasco Mesкуро). A cada dia, os frascos eram reposicionados na mesa incubadora com a finalidade de garantir recebimento igual de luz. O experimento foi conduzido por oito dias; entretanto, a fase de crescimento estacionário da biomassa microalgal foi alcançada em torno de 3-4 dias (74 horas), sendo o tempo considerado para a discussão dos resultados.

Tabela 2 - Condições operacionais e de cultivo testadas.

Condições	Iluminação	Microrganismos	Suplementação
M	Sim	Microalgas	Não
MB	Sim	Microalgas + Bactérias	Não
MB+CO ₂	Sim	Microalgas + Bactérias	CO ₂
MB+O ₂	Sim	Microalgas + Bactérias	Aeração - O ₂
M _{escuro}	Não	Algas	Não

2.4 Procedimentos de coleta

Os parâmetros de pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura, LUX e turbidez foram monitorados diariamente. Já as concentrações de sólidos suspensos totais (SST) e das amostras solúveis (filtradas antes das análises com filtro de nylon de poros de 0,20 µm): DQO, COT, Cl, CT, NT, N-NH₄⁺, nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻) e fósforo (P-PO₄³⁻), foram medidas no início e ao final do experimento. Para monitorar o crescimento das microalgas foi utilizada a turbidez, já que por meio da correlação entre este parâmetro e a biomassa seca se obtém uma estimativa direta da concentração biomassa em sólidos suspensos totais (mg SST.L⁻¹) (TOYODA, GISHI, et al., 2011).

2.5 Procedimentos analíticos

Todas as análises foram realizadas de acordo com os critérios definidos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017). A intensidade da luz foi medida com um LX-101 medidor de lux (Lutron Corporation, Taiwan). As concentrações de COT, Cl, CT e NT foram determinadas utilizando um analisador de carbono orgânico Vario TOC cube (Elementar, Alemanha). OD e pH foram determinados utilizando medidores de bancada Hanna HI2004-01 e HI2001-01, respectivamente (Hanna instruments, EUA). N-NH₄⁺ foi medida usando eletrodo de amônia em um Orion Five Star multiparâmetro (Thermo Scientific, Holanda). A determinação da turbidez foi feita por meio do turbidímetro Hanna HI 98703-01 (Hanna instruments, EUA).

Os ânions N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ e P-PO₄³⁻ foram analisados por meio de um Cromatógrafo iônico Dionex UltiMate ICS 1100 com uma coluna IonPac AG19/AS19 (Thermo Scientific, EUA). Os resultados relativos ao fósforo foram convertidos de ortofosfato (P-PO₄³⁻) para fósforo de ortofosfato (PO₄⁻P). A identificação de microalgas foi realizada por meio de exame microscópico (Olympus BX41, EUA) com as amostras fixadas com solução de lugol 5% e armazenadas a 4°C antes da análise, segundo metodologia de Sournia (1978).

2.6 Equações utilizadas

A determinação das eficiências de remoções de DQO, COT, Cl, CT, NT, N-NH₄⁺ e P foram calculadas conforme a Eq. 1.

$$RE = \frac{100 - X_{final}}{X_{inic}} \times 100 \quad (1)$$

Onde X_{inic} e X_{final} representam as concentrações de entrada e saída (mg L⁻¹), respectivamente.

Quanto à concentração de nutrientes, também foi calculada a taxa de remoção absoluta (TR), considerando a área iluminada dos frascos, segundo a Eq. 2.

$$TR = \frac{X_{inic} - X_{final}}{(t_f - t_0) \times S} \quad (2)$$

Em que X_{inic} e X_{final} correspondem às concentrações inicial e final (g L⁻¹), t₀ e t_f respectivamente, o instante inicial e final (d) e S à área iluminada dos fotobiorreatores (m²). O resultado é expresso em g.L⁻¹ d⁻¹ m⁻².

O cálculo da produtividade das microalgas (mg L⁻¹ d⁻¹) foi feito a partir da inclinação da curva de SST (obtido a partir de turbidez) em função do tempo. Na determinação do balanço de massas de C, N e P foram utilizadas, respectivamente, as Eq. 3, 4 e 5 a seguir.

$$C \text{ recuperação (\%)} = 100 \frac{(C - CO_2 + COT + CI + C_{biomassa})_{Final}}{(C - CO_2 + COT + CI + C_{biomassa})_{Inicial}} \quad (3)$$

$$N \text{ recuperação (\%)} = 100 \frac{(NNH_4^+ + NNO_2^- + NNO_3^- + N_{organico} + N_{biomassa})_{Final}}{(NNH_4^+ + NNO_2^- + NNO_3^- + N_{organico} + N_{biomassa})_{Inicial}} \quad (4)$$

$$P \text{ recuperação (\%)} = 100 \frac{(P-PO_4^{3-} + P_{biomassa})_{Final}}{(P-PO_4^{3-} + P_{biomassa})_{Inicial}} \quad (5)$$

Onde C-CO₂ representa o CO₂ gasoso (mg L⁻¹), Norganico a concentração de nitrogênio solúvel (mg L⁻¹) e C_{biomassa}, N_{biomassa} e P_{biomassa} representam os teores de carbono, nitrogênio e fósforo na biomassa (mg L⁻¹), respectivamente. Essas concentrações de C_{biomassa}, N_{biomassa} e P_{biomassa} foram consideradas a partir dos resultados de Serejo et al. (2015), onde o inóculo de microalgas utilizado foi o mesmo, e eles obtiveram concentrações similares no experimento independentemente das fases investigadas.

Os resultados obtidos foram expressos como média aritmética com o respectivo desvio padrão e analisados estatisticamente utilizando teste t- *Student* com nível de confiança de 95%. Foi utilizada a Correlação de Pearson para verificar a influência dos parâmetros de condições ambientais e operacionais no crescimento da biomassa e nas remoções dos nutrientes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Condições ambientais e operacionais

O pH dos FBRs se manteve em uma faixa alcalina, alcançando valor máximo de até 9,7 nas condições com injeção de CO₂ e ar atmosférico (Fig. 1a). Apesar de a adição do gás favorecer a diminuição do pH (PARK, CRAGGS, et al., 2011, POSADAS, MORALES, et al., 2015), esse efeito não foi observado neste experimento. Na condição M_{escuro} os valores foram mais baixos = 7,0 devido à ausên-

cia de atividade fotossintética. Em todas as condições houve aumento gradativo desse parâmetro, provavelmente causado pelo crescimento autotrófico e/ou mixotrófico das microalgas que consomem o CO₂ do meio, como também a excreção de metabólitos na degradação da matéria orgânica (DELGADILLO-MIRQUEZ, LOPES, et al., 2016).

Os níveis de oxigênio dissolvido em todas as condições permaneceram acima de 2 mgO₂ L⁻¹, que é a concentração mínima necessária para que ocorra oxidação da matéria orgânica e nitrificação, conforme apresentado na Fig. 1b (METCALF & EDDY INC, 2016). A diminuição da concentração de OD na condição MB+O₂ indica uma maior atividade bacteriana para a oxidação da matéria orgânica e NH₄⁺ (POSADAS, GARCÍA-ENCINA, et al., 2014). Outra possibilidade para a redução de OD nesta condição pode estar relacionada ao *stripping* de oxigênio, devido à agitação, ocasionando a transferência por arraste da fase líquida para o ar atmosférico (JORGENSEN, 1979, METCALF & EDDY INC, 2016).

A correlação de Pearson entre o crescimento da biomassa e o consumo de OD mostrou que as duas variáveis estão fortemente correlacionadas negativamente (r = 0,92) para p < 0,05, sendo estas inversamente proporcionais. Esse fato pode ser confirmado com a alta produtividade alcançada (discutido adiante) e a consequente diminuição dos níveis de OD na condição MB+O₂. Nesse caso, a alta concentração da biomassa

ocasiona o sombreamento na população de microalgas, reduzindo a eficiência fotossintética e diminuindo a concentração de O_2 no meio devido ao consumo pela respiração, principalmente durante a fase de escuridão (SU, MENNERICH, et al.,

2012). Já nas outras condições foi observado um menor crescimento da biomassa, com maiores valores de OD, o que pode indicar que OD mais elevado no meio inibiu o crescimento, diminuindo a produtividade nessas condições.

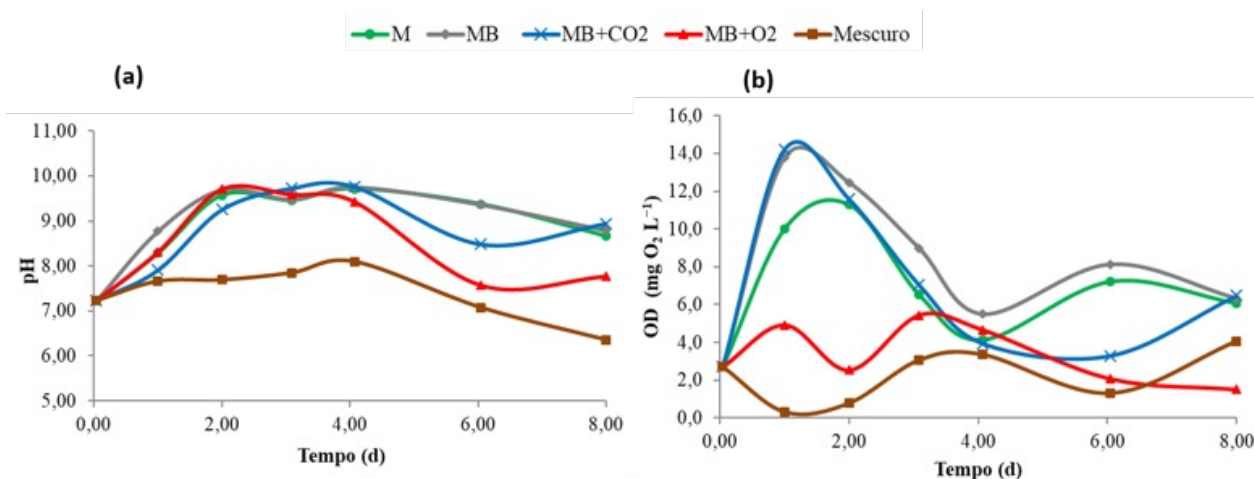


Figura 1 - Variações dos parâmetros: (a) pH e (b) Oxigênio dissolvido (OD) durante o período experimental para as condições: Microalga (M), Microalga e bactéria (MB), Microalga e bactéria com adição de CO_2 ($MB+CO_2$), Microalga e bactéria com ar atmosférico ($MB+O_2$) e Microalga escuro (M_{escuro}).

3.2 Eficiência de remoção da matéria orgânica, carbono e nutrientes

As concentrações finais de DQO, COT, CI, CT, NT, $N-NH_4^+$ e P estão apresentadas na Tabela 3. Com exceção da condição M, os valores de DQO alcançados ficaram em limites de baixa concentração, evidenciando a eficiência de tratamento dos sistemas com o consórcio de microalgas e bactérias e destacando o papel das bactérias na degradação de DQO, onde foram obtidas remoções de 84 ± 11 ; 95 ± 6 ; $93 \pm 3\%$ para MB, $MB+CO_2$ e $MB+O_2$, respectivamente. O mesmo foi observado por Ji et al. (2018), que testaram em um experimento em batelada de 10 dias, proporções das frações de alga e bactéria e obtiveram remoções de até 86,55% de DQO utilizando consórcio de *Chlorella vulgaris* e *Bacillus licheniformis* na proporção de 1:3.

Em contraste, a remoção de DQO na condição M_{escuro} ($96 \pm 6\%$) mostra a capacidade de atividade mixotrófica da *C. vulgaris*, que consegue utilizar no seu metabolismo as fontes de carbono orgânica e inorgânica (NIRMALAKHANDAN, SELVA-RATNAM, et al., 2019). Já a menor eficiência de remoção de DQO no FBR inoculado somente com microalga ($34 \pm 29\%$), indica a limitação em decorrência do cultivo autotrófico devido à baixa disponibilidade de carbono orgânico para o metabolismo das microalgas (NAGARAJAN, LEE, et al., 2020).

Petrini; Foladori e Andreottola (2018), em um fotobiorreator sequencial de bancada inoculado com ciclos de 48 h e para tratamento de esgoto doméstico primário, conseguiram remoções semelhantes de $85 \pm 8\%$ de DQO. Remoção inferior de $76 \pm 0,2\%$ de DQO foi alcançada por Chaudhary; Tong e Dikshit (2017) em um experimen-

to de 14 dias em batelada também com efluente primário e inoculado somente com microalgas

(*Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*) em reatores com suplementação de CO₂ e ar atmosférico.

Tabela 3 - Concentrações iniciais e finais da matéria orgânica, carbono e nutrientes nitrogênio e fósforo nas cinco condições testadas no experimento.

	Condição	DQO	COT	CT	CI	NT	N-NH ₄ ⁺	P
Entrada	E	195 ± 13	342 ± 10	547 ± 16	206 ± 6,1	626 ± 19	30 ± 0,8	5,20
Concentrações finais (mg.L ⁻¹)	M	129 ± 56	93 ± 63,7	123 ± 61,7	30 ± 2	81 ± 9,8	36 ± 0	nd
	MB	31 ± 12	141 ± 0,7	167 ± 2,1	35 ± 34	170 ± 160	11 ± 16	1,87
	MB+CO ₂	10 ± 3	55 ± 0,8	65 ± 2,3	10 ± 2	46 ± 2,6	4 ± 6	2,81
	MB+O ₂	14 ± 16	47 ± 0,5	58 ± 1,0	11 ± 1,0	19 ± 2,1	0,19 ± 0	nd
	M _{escuro}	9 ± 3	43 ± 0,1	89 ± 0,7	46 ± 1,0	108 ± 7,5	0	nd

Valores médios e desvio padrão; nd= Não detectado (abaixo do limite de detecção (LOD) do equipamento).

As remoções de COT e CI foram de 84 ± 0,2 e 95 ± 0,7% em MB+CO₂, respectivamente, e 86 ± 0,1 e 95 ± 0,3% em MB+O₂ (Figura 2). O alto índice de remoção de CI aliado ao crescimento da biomassa indica a utilização deste nutriente pelas microalgas para o seu crescimento (KIM, LINGARAJU, et al., 2010). A alta remoção de COT e CI nas condições com adição de gás carbônico e aeração também indica que a suplementação de CO₂ foi benéfica para a utilização dessa fonte de carbono inorgânico adicionado para o desenvolvimento das algas (TORRES-FRANCO, PASSOS, et al., 2021).

O balanço de massas (Tabela 4) mostrou que, com exceção da condição Mescuro, a assimilação de C pela biomassa foi o mecanismo predominante, sendo maior na condição com aeração com quase 100% de recuperação. Já nas condições M, MB; MB+CO₂ e M_{escuro}, as porcentagens de recuperação foram de 67; 89; 62 e 30%, respectivamente. Resultados similares foram encontrados por Posadas et al. (2015), que obtiveram até 85 ± 6% de remoção de COT, mas com recuperação de somente até 45% de C pela biomassa, em estágio de experimento com adição de CO₂ de gás de combustão em reatores raceways inoculados com *Scenedesmus* sp. e lodo ativado.

Dentre os parâmetros de condições ambientais e operacionais, a turbidez teve uma correlação positiva forte e significativa estatisticamente

com a recuperação de carbono pela biomassa (Teste de Correlação de Pearson, p = 0,01, r = 1,0, r² = 0,9188) indicando também que a assimilação foi um mecanismo relevante no processo. Já pH e OD tiveram correlação fraca ((r = 0,26) e negativamente desprezível (r = 0,16) para p < 0,05 com a assimilação de carbono, respectivamente.

Para NT, as remoções mais significativas foram também nos fotobiorreatores inoculados com microalga e bactéria, sendo ligeiramente superiores nas condições com adição de CO₂, alcançando resultados de 90 ± 1,4% no M+B; 93 ± 0,2% em MB+CO₂ e 95 ± 1,8% em MB+O₂, enquanto nas outras condições os resultados foram de 88 ± 1,9 e 83 ± 1,2% nos FBRs M e M_{escuro}, respectivamente (Fig. 2). Su; Mennerich e Urban (2012) observaram remoção de 91,0 ± 7,0% de N em experimento de até 14 dias em batelada inoculados com cultura de alga e lodo na proporção de 5:1, demonstrando o benefício da cooperação sinérgica entre esses dois organismos no tratamento de esgoto doméstico. Assim como verificado neste trabalho, a adição de ar atmosférico se mostrou promissora também no experimento em batelada de Gonçalves et al. (2014), que conseguiram melhores resultados com remoções de até 100% de NT, utilizando somente microalgas com quatro diferentes cepas incluindo *C. Vulgaris* em meio de cultura que simulava esgoto doméstico e avaliando a irradiância da luz em um experimento com duração de 12 dias.

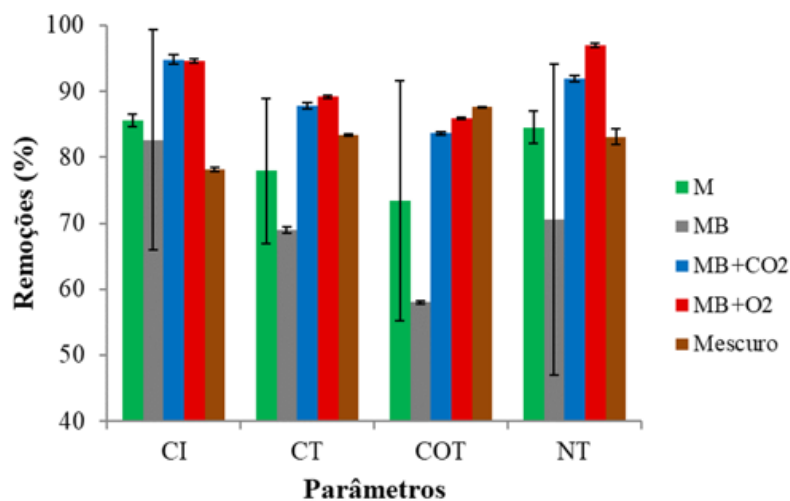


Figura 2 - Eficiências de remoção em porcentagem de carbono inorgânico (CI), carbono total (CT), carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT) nas diferentes condições estudadas (resultados expressos em média e desvio padrão).

Afora o FBR M, que apresentou resultado insignificante, as remoções de $N-NH_4^+$ foram satisfatórias com 60, 86, 99 e 100% para as condições M+B, MB+CO₂, MB+O₂, e Mescuro, respectivamente (Tabela 3). De semelhante modo, Liang et al. (2013) também observaram em um experimento com diferentes tipos de cultura, remoções maiores com 78% de NH₄⁺, em sistemas combinados, do que em somente alga ou somente bactéria. Com exceção de Mescuro e M+B, não foram detectados NO₂⁻ e NO₃⁻ nas outras condições estudadas, sugerindo ausência de nitrificação, provavelmente pela baixa predominância de bactérias nitrificantes no inóculo inicial (POSDAS, GARCÍA-ENCINA, et al., 2014).

Conforme apresentado na Tabela 4, as taxas de remoções absolutas de nitrogênio foram 5,5; 4,7 5,9; 6,1, e 5,9 g N.L⁻¹ d⁻¹ m⁻² para M, M+B, MB+CO₂, MB+O₂, e M_{escuro}, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre as condições estudadas. Resultado inferior foi encontrado por Petrini; Foladori; Andreotto-la (2018), com taxa de remoção volumétrica de 2,9 mg N L⁻¹ h⁻¹ por ação de consórcio de microalgas-bactérias em FBR de 2 L sem aeração. Considerando a remoção de N por unidade de super-

fície, Arbib et al. (2017) reportaram resultado de 0.41 gN d⁻¹ m⁻² em HRAP operado em batelada com 0,3 m de profundidade e adição de CO₂.

Tabela 4 - Taxas de remoções absolutas dos nutrientes e porcentagens de recuperação da biomassa para carbono, nitrogênio e fósforo para as condições testadas no experimento.

	Condição	CT	NT	P
Taxa de remoção absoluta (g L ⁻¹ d ⁻¹ m ⁻²)	M	4,1	5,5	nd
	MB	3,5	4,7	nd
	MB+CO ₂	4,4	5,9	0,013
	MB+O ₂	4,5	6,1	0,004
	M _{escuro}	4,4	5,9	nd
Balanço de massa Recuperação (%)	M	67	27	0,3*
	MB	89	40	1,8
	MB+CO ₂	62	21	2,2
	MB+O ₂	100	35	4,5*
	M _{escuro}	30	19	0,4*

nd= Não detectado (abaixo do limite de detecção (LOD) do equipamento); *valores estimados para balanço de massa do elemento fósforo.

A suplementação de carbono possibilita a redução do pH no meio, o que pode favorecer uma maior recuperação de nitrogênio e fósforo pela assimilação em biomassa de algas/bactérias (PARK, CRAGGS, 2010, PARK, CRAGGS, et al., 2011). No entanto, como discutido anteriormen-

te, nos FBRs com adição de gás carbônico não foi observada diminuição significativa do pH. Pela análise do balanço de massa, foram recuperados somente em torno de 21% (MB+CO₂) e 35% (MB+O₂) de nitrogênio pela biomassa, indicando não ter sido este o mecanismo de remoção predominante nessas condições (Tabela 4). A Correlação de Pearson entre turbidez e recuperação de N pela biomassa mostrou uma relação moderada ($p = 0,33$, $r = -0,18$, $r^2 = 0,03172$) entre essas duas variáveis.

A elevação do pH ($pH > 9$) sugere o favorecimento da volatilização da amônia, indicando a possibilidade de esta ter sido o principal mecanismo de remoção de N (RUIZ-MARTINEZ, MARTIN GARCIA, et al., 2012). Apesar de a assimilação ser um dos principais mecanismos para remoção de nitrogênio, o stripping de N-NH₄⁺ também prevalece como meio de remoção de N quando em condições favoráveis de pH e temperatura elevadas (TORRES-FRANCO, PASSOS, et al., 2021). Esse mecanismo foi observado por Ruiz-Marin; Mendoza-Espinosa; e Stephenson (2010) em um experimento em batelada com duração de até 50 horas e com duas espécies de microalgas crescendo como células imobilizadas e livres para remoção de N e P, em que o alto pH pode ter contribuído para o stripping de NH₃ do meio, ainda que em fotobiorreatores com baixa agitação, e, portanto, com menores taxas de troca gasosa com a atmosfera, como neste experimento. O teste de correlação de Pearson entre pH e eficiência de remoção mostrou uma relação negativa, e, portanto, inversamente proporcional entre as duas variáveis, mas com uma correlação desprezível ($p = 0,77$, $r = 0,56$, $r^2 = 0,3099$). Já a associação entre recuperação de N pela biomassa e pH não indicou essa relação inversa, estando as duas variáveis positivamente e moderadamente correlacionadas ($p = 0,37$, $r = 0,52$, $r^2 = 0,2675$).

Tendo em vista que a forma nitrogenada utilizada como parâmetro pela legislação nacional

vigente Resolução CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011), é o nitrogênio amoniacal total, somente a condição M (Microalgas) não apresentou remoção satisfatória, ficando as outras condições com resultados abaixo do limite estabelecido de 20 mg L⁻¹ (Tabela 3). Já como comparativo dos resultados alcançados para nitrogênio total, tendo em vista a inexistência desse padrão na legislação federal vigente, foi utilizada a legislação mais restritiva da União Europeia, Diretiva 98/15/EC, que estabelece para lançamento valores de até 10 mg NT L⁻¹ (EUROPEAN UNION, 1998), ficando acima do limite determinado em todas as condições estudadas.

Com exceção das condições MB e MB+CO₂ que alcançaram remoções de 64 e 46% de P (ortofosfato convertido para fósforo de ortofosfato), respectivamente, não foi possível determinar precisamente as remoções para este nutriente, pois os valores estavam abaixo do limite de detecção (LOD) do cromatógrafo iônico. Entretanto, considerando a estimativa de um valor de LOD de 1,3 µg L⁻¹ baseado em estudos de validação e calibração para determinação de ortofosfato por cromatografia iônica com as colunas utilizadas na análise deste experimento, remoções de quase 100% foram encontradas para M, MB+O₂ e M_{escuro} (BORBA; JACK; ROHRER, 2014). Resultado semelhante foi obtido por Ruiz-Martinez et al. (2012), cujas concentrações ficaram muito próximas ao limite de detecção do método colorimétrico utilizado (0,04 mg P L⁻¹), o que os autores interpretaram como indicação da remoção completa do nutriente.

A legislação federal vigente que dispõe sobre padrões para lançamentos de efluentes Resolução CONAMA 430/2011, deixa a critério dos órgãos ambientais subordinados a definição de limites específicos de concentração de fósforo nos efluentes (BRASIL, 2011). No entanto, considerando que a mesma legislação determina que os efluentes lançados não poderão deteriorar a qualidade da água do corpo receptor, alterando

sua classe de enquadramento de acordo com uso preponderante, compararam-se os resultados alcançados na remoção de fósforo nesse experimento com o padrão mais restritivo disposto na Resolução CONAMA 357/2005, classe 3, com $0,15 \text{ mgP L}^{-1}$ em ambiente lótico (BRASIL, 2005). Portanto, para as condições em que as concentrações finais foram detectadas, os resultados ficaram acima do limite estabelecido na referida norma para MB e MB+CO₂. Esses resultados também não se enquadraram no comparativo com o padrão exigido pela legislação da União Europeia Diretiva 98/15/EC, que estabelece para lançamento valores de até 1 mg P L^{-1} (EUROPEAN UNION, 1998).

Não foi possível avaliar com exatidão o mecanismo de remoção do fósforo, porém o valor médio do pH >9 indicou um favorecimento de precipitação do fosfato (LIANG, LIU, et al., 2013). Normalmente o fósforo está presente nos efluentes na forma de ortofosfato solúvel e sendo removido pelas microalgas por assimilação; a remoção pelo mecanismo abiótico de precipitação pode ocorrer quando o ortofosfato está acompanhado por cátions como Ca²⁺ e Mg²⁺, pH elevado e alta taxa de oxigênio dissolvido, sendo um mecanismo significativo para remoção de P nos efluentes (WANG, Jing-Han, ZHANG, et al., 2017). É importante destacar que, se o fósforo precipitado for colhido com a biomassa e utilizado adequadamente nos produtos de valor agregado gerados, esse mecanismo de remoção não se torna problemático para o sistema (ACIÉN FERNÁNDEZ, GÓMEZ-SERRANO, et al., 2018).

O cálculo estimado do balanço de massas sugeriu também a predominância da precipitação de P como mecanismo de remoção desse nutriente, já que em todas as condições a assimilação foi baixa, com recuperação de apenas 1,8 e 2,2% para as condições detectadas MB e MB+CO₂

(Tabela 4). Para as condições com resultados estimados, o maior resultado foi para MB+O₂ com 4,5% de recuperação. Corroborando também a hipótese desta forma indireta de remoção de P, a correlação entre turbidez e a recuperação desse nutriente mostrou uma relação negativa e baixa (Teste de Correlação de Pearson, $p = 0,94$; $r = -0,04$; $r^2 = 0,002159$). Resultado semelhante foi observado por Delgadillo-Mirquez et al., (2016), ao obter coeficientes baixos ao correlacionar a concentração do fosfato residual com a concentração de clorofila do cultivo, em um experimento em batelada de 08 dias, inoculado com cultura de microalgas e bactérias e com remoção total de fosfato do meio após 100-150 h.

3.3 População das microalgas e produtividade da biomassa

Não houve mudança significativa na população de microalgas, tendo em vista que a identificação final mostrou um consórcio formado predominantemente por *Chlorella vulgaris* (98%), tal como foi inoculado nos FBRs. Essa espécie de microalga mixotrófica tem uma alta eficiência fotossintética, produtividade e adaptabilidade a condições ambientais severas (CALICIOGLU, DEMIRER, 2015, SAFI, ZEBIB, et al., 2014).

A adição de CO₂ e ar nas condições MB+CO₂ e MB+O₂, respectivamente, aumentou consideravelmente a produtividade máxima da biomassa em 42 e 112%, comparando com a condição MB, alcançando taxas de 179 ± 16 e $267 \pm 10 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Fig. 3). Esse incremento no crescimento da biomassa foi observado por Arbib et al. (2017), com aumento de até 39% na produtividade com a suplementação de CO₂. Maior produção de microalgas também foi observada por Park e Craggs (2010), em HRAPs com adição de CO₂ pelo aumento do tempo de disponibilidade de carbono e por prevenir a inibição por amônia.

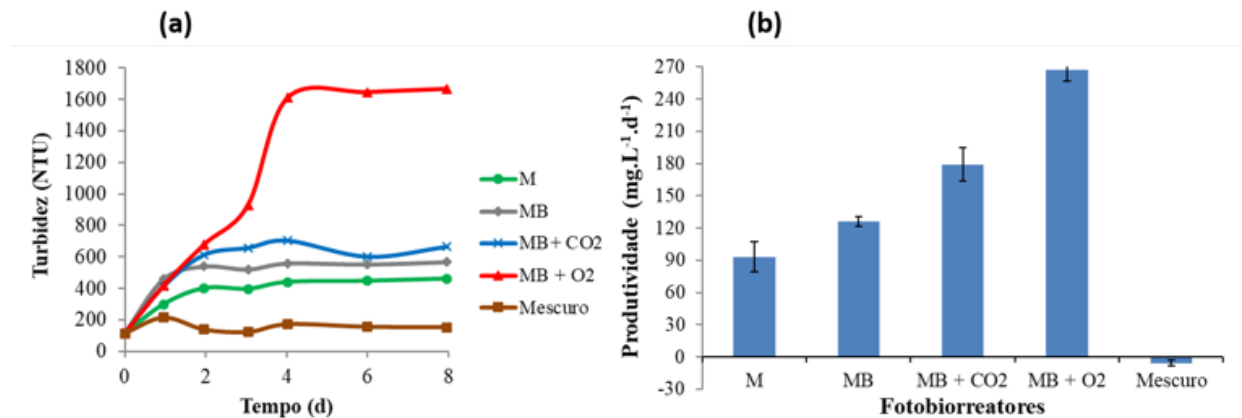


Figura 3 - (a)Variação diária da turbidez durante o experimento e (b) Produtividade da biomassa nos cinco fotobiorreatores do experimento.

4 CONCLUSÕES

Em todas as condições testadas foram alcançados bons resultados de remoção de nutrientes e matéria orgânica (remoções médias acima de 70%). Dentre os tipos de cultivo avaliados, os fotobiorreatores contendo consórcio de microalga-bactérias se destacaram com melhores performances nas remoções dos poluentes e no crescimento da biomassa, o que evidencia a cooperação sinérgica entre esses dois organismos e confirma a viabilidade desse sistema no tratamento de efluentes domésticos.

As interações entre as microalgas e bactérias e os mecanismos de remoção de carbono, nitrogênio e fósforo também foram investigados. Destacou-se o papel das bactérias na oxidação da matéria orgânica, tendo em vista que as maiores remoções foram obtidas nas condições de cultivo com inóculo misto, com remoções de até $95 \pm 6\%$ de DQO. Em contraponto, o resultado obtido de remoção de DQO na condição M_{escuro} também foi relevante (96%), possibilitada pela atuação no modo de cultivo mixotrófico das microalgas. Na remoção de carbono, a assimilação pelas microalgas foi o mecanismo predominante com remoções de carbono inorgânico na média de 95% nas condições com adição de CO₂ e aeração. O balanço de massas para esse elemento mostrou

que as maiores absorções ocorreram nos modos de cultivo autotróficos, com quase 100% de recuperação na condição com aeração.

Para nitrogênio e fósforo prevaleceram os mecanismos de remoção indireta. A condição MB+O₂ apresentou maior remoção de NT com $95 \pm 1,8\%$, mas a baixa recuperação de N pela biomassa com 35% e o pH elevado indicaram o favorecimento da ocorrência de volatilização da amônia. Do mesmo modo, para fósforo, nas concentrações detectadas, o pH elevado em conjunto com alta concentração de oxigênio dissolvido podem ter contribuído para a precipitação. O melhor resultado na remoção de fósforo, com 63%, foi obtido na condição MB.

Os fotobiorreatores com adição de CO₂ e oxigênio se sobressaíram também nos resultados de produtividade da biomassa, com maior destaque para o último com $267 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Por fim, em análise da influência dos parâmetros ambientais, os resultados indicam também que o oxigênio dissolvido funcionou como um fator de inibição no crescimento da biomassa, sendo, portanto, importante o controle desse parâmetro no sistema, contribuindo para uma maior produtividade e por consequência aumentando as remoções de nutrientes.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio obtido das seguintes instituições: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico–CNPq (Projeto número 429567/2016-2); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior–CAPES pela bolsa de doutorado concedida a Sarah Farias (88887.494042/2020-00); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG; Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Estações Sustentáveis de Tratamento de Esgoto – INCT ETEs Sustentáveis.

6 CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Conceitualização: Farias SL; **Metodologia:** Farias SL, Ruas G e Serejo ML; **Investigação:** Farias SL, Ruas G; **Redação – Primeira versão:** Farias SL; **Redação – Revisão & Edição:** Ruas G, Serejo ML e Boncz MA; **Aquisição de Financiamento:** Boncz MA; **Recursos:** Boncz MA; **Supervisão:** Boncz MA e Serejo ML.

7 REFERÊNCIAS

ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G., GÓMEZ-SERRANO, C., FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M. Recovery of Nutrients From Wastewaters Using Microalgae. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, v. 2, n. September, p. 1–13, 2018. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00059>.

ALCÁNTARA, C., POSADAS, E., GUIEYSSE, B., Muñoz, R. Microalgae-based Wastewater Treatment. *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances*, 1. ed. [S.l: s.n.], 2015. p. 439–455. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00029-7>.

APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23. ed. Washington, American Public Health Association, 2017.

ARAVANTINOU, A. F., THEODORAKOPOULOS, M. A., MANARIOTIS, I. D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. *Bioresource Technology*, v. 147, p. 130–134, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.024>

ARBIB, Z., DE GODOS, I., RUIZ, J., PERALES, J. A. Optimization of pilot high rate algal ponds for simultaneous nutrient removal and lipids production. *Science of the Total Environment*, v. 589, p. 66–72, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.206>.

BORBA, B. De, JACK, R. F., ROHRER, J. Application Note 1103: Determination of Total Nitrogen and Phosphorus in Wastewaters by Alkaline Persulfate Digestion Followed by IC. *Thermo Fisher Scientific*. [S.l: s.n.], 2014.

BRASIL. Resolução CONAMA 430/2011. 2011. *Diário Oficial da União*. DOI: 10.1073/pnas.0703993104. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>.

BRASIL. Resolução n 357, 18 de março de 2005. 2005. *Diário Oficial da União*. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>.

BRIMBLECOMBE, P. *Air Composition and Chemistry*. 2 ed. New York, [s.n.], 1996.

CALICIOGLU, O., DEMIRER, G. N. Integrated nutrient removal and biogas production by *Chlorella vulgaris* cultures. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, v. 7, n. 3, 2015. <https://doi.org/10.1063/1.4922231>

CHAUDHARY, R., TONG, Y. W., DIKSHIT, A. K. CO₂-assisted removal of nutrients from municipal wastewater by microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, v. 15, n. 10, p. 2183–2192, 2017. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1571-0>.

DE-BASHAN, L. E., BASHAN, Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 6, p. 1611–1627, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.043>

DELGADILLO-MIRQUEZ, L., LOPES, F., TAIDI, B., PAREAU, D. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology Reports*, v. 11, p. 18–26, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.04.003>

EUROPEAN UNION. COMMISSION DIRECTIVE 98/15/EC. *Official Journal of the European Communities*, p. 40–41, 1998.

GARCÍA, D., ALCÁNTARA, C., BLANCO, S., PERÉZ, R., BOLADO, S., MUNÓZ, R. Enhanced carbon, nitrogen and phosphorus removal from domestic wastewater in a novel anoxic-aerobic photobioreactor coupled with biogas upgrading. *Chemical Engineering Journal*, v. 313, p. 424–434, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.054>.

GONÇALVES, A.L., SIMÕES, M., PIRES, J. C. M. The effect of light supply on microalgal growth, CO₂ uptake and nutrient removal from wastewater. *Energy Conversion and Management*, v. 85, p. 530–536, jun. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.05.085>.

GONÇALVES, A. L., PIRES, J. C. M., SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research*, v. 24, p. 403–415, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>

JJ, X., JIANG, M., ZHANG, J., JIANG, X., ZHENG, Z. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients

- removal from synthetic wastewater. **Bioresource Technology**, v. 247, n. July 2017, p. 44–50, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.074>
- JORGENSEN, S. Chapter 10 Aeration and Stripping. **Studies in Environmental Science**, [S.l: s.n.], 1979. p. 129–151.
- KIM, J., LINGARAJU, B. P., RHEAUME, R., LEE, J.-Y., SIDDIQUI, K. F. Removal of Ammonia from Wastewater Effluent by *Chlorella Vulgaris*. **Tsinghua Science and Technology**, v. 15, n. 4, p. 391–396, 2010. [https://doi.org/10.1016/S1007-0214\(10\)70078-X](https://doi.org/10.1016/S1007-0214(10)70078-X)
- KOREIVIEN, J., VAL, R., KAROSIENE, J., BALTRËNAS, P. Testing of *Chlorella/Scenedesmus* microalgae consortia for remediation of wastewater, CO₂ mitigation and algae biomass feasibility for lipid production. **Journal of Environmental Engineering and Landscape Management**, v. 22(02), p. 105–114, 2014. <https://doi.org/10.3846/16486897.2013.911182>.
- LIANG, Z., LIU, Y., GE, F., TAO, N., PENG, F., WONG, M. Efficiency assessment and pH effect in removing nitrogen and phosphorus by algae-bacteria combined system of *Chlorella vulgaris* and *Bacillus licheniformis*. **Chemosphere**, v. 92, n. 10, p. 1383–1389, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.014>.
- LIU, L., FAN, H., LIU, Y., LIU, C., HUANG, X. Development of algae-bacteria granular consortia in photo-sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 232, p. 64–71, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.025>
- MATAMOROS, V., GUTIÉRREZ, R., FERRER, I., GARCÍA, J., BAYONA, J. M. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: A pilot-scale study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 288, p. 34–42, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.002>
- METCALF & EDDY INC. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5/2016 ed. Porto Alegre, [s.n.], 2016.
- MUÑOZ, R., GUIEYSSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, n. 15, p. 2799–2815, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.011>.
- NAGARAJAN, D., LEE, D.-J., CHEN, C.-Y., CHANG, J.-S. Resource recovery from wastewaters using microalgae-based approaches: A circular bioeconomy perspective. **Bioresource Technology**, v. 302, n. December 2019, p. 122817, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122817>
- NIRMALAKHANDAN, N., SELVARATNAM, T., HENKANATTE-GEDEERA, S. M., TCHINDA, D., ABEYSIRIWARDANA-ARACHCHIGE, I.S.A., DELANKA-PEDIGE, H. M. K., MUNASINGHE-ARACHCHIGE, S.P., ZHANG, Y., HOLGUIN, F. O., LAMMERS, P. J. Algal wastewater treatment: Photoautotrophic vs. mixotrophic processes. **Algal Research**, v. 41, n. May, p. 101569, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101569>
- PARK, J. B. K., CRAGGS, R. J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science & Technology**, v. 5, p. 633–640, 2010. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.951>.
- PARK, J. B. K., CRAGGS, R. J., SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 35–42, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>
- PETRINI, S., FOLADORI, P., ANDREOTTOLA, G. Laboratory-scale investigation on the role of microalgae towards a sustainable treatment of real municipal wastewater. **Water Science and Technology**, v. 78, n. 8, p. 1726–1732, 2018. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.453>.
- POSADAS, E., GARCÍA-ENCINA, P. A., DOMÍNGUEZ, A. Enclosed tubular and open algal – bacterial biofilm photobioreactors for carbon and nutrient removal from domestic wastewater. **Ecological Engineering Journal**, v. 67, p. 156–164, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.007>.
- POSADAS, E., MORALES, M. M., GOMEZ, C., ACIÉN, F. G., MUÑOZ, R. Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilot raceways. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 239–248, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.12.059>
- RUAS, G., SEREJO, M. L., PAULO, P. L., BONCZ, M. A. Evaluation of domestic wastewater treatment using microalgal-bacterial processes: effect of CO₂ addition on pathogen removal. **Journal of Applied Phycology**, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1280-6>.
- RUIZ-MARIN, A., MENDOZA-ESPINOSA, L. G., STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 58–64, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.076>
- RUIZ-MARTINEZ, A., MARTIN GARCIA, N., ROMERO, I., SECO, A., FERRER, J. Microalgae cultivation in wastewater: Nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 247–253, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.022>
- SAFI, C., ZEBIB, B., MERAH, O., PONTALIER, P.-Y., VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265–278, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>.
- SEREJO, M. L., POSADAS, E., BONCZ, M. A., BLANCO, S., GARCÍA-ENCINA, P., MUÑOZ, R. Influence of biogas flow rate on biomass composition during the optimization of biogas upgrading in microalgal-bacterial processes. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 5, p. 3228–3236, 2015. DOI: 10.1021/es5056116.
- SOURNIA, A. **Phytoplankton manual**. Paris, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), 1978.

SU, Y., MENNERICH, A., URBAN, B. Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: Influence of algae and sludge inoculation ratios. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 67–73, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.113>

TORRES-FRANCO, A., PASSOS, F., FIGUEREDO, C., MOTA, C., MUÑOZ, R. Current advances in microalgae-based treatment of high-strength wastewaters: challenges and opportunities to enhance wastewater treatment performance. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 209–235, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09556-8>.

TOYODA, K., GISHI, M., IHARA, I. Effect of light quality and nutrients on growth of hydrocarbon-rich microalgae, *Botryococcus*

braunii. 907, 2011., in: VI International Symposium on Light in Horticulture, 2011. p. 255–258. **Anais...** [S.l.]

WANG, J.-H., ZHANG, T.-Y., DAO, G.-H., XU, X. -Q., WANG, X. -X., HU, H.-Y. Microalgae-based advanced municipal wastewater treatment for reuse in water bodies. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 7, p. 2659–2675, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8184-x>. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-017-8184-x>.

WANG, Y., HO, S. H., CHENG, C. L., GUO, W.-Q., NAGARAJAN, D., REN, N.-Q., LEE, D.-J., CHANG, J. -S. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 222, p. 485–497, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.106>