



## EFEITO DO USO DE EFLUENTE DOMÉSTICO TRATADO, COMO MEIO DE CULTURA, SOBRE O CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE NO CULTIVO DE *Chlamydomonas* sp. ISOLADA DE LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO

Fábio de F. Neves<sup>1\*</sup>, Mônica L. Jerêmias<sup>1</sup>, Rafael G. Lopes<sup>2</sup>, Augusto Sardá<sup>2</sup>,  
Leonardo R. Rörig<sup>3</sup>, Roberto B. Dener<sup>2</sup>, Henrique de M. Lisboa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-970, Florianópolis, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Cultivo de Algas – Universidade Federal de Santa Catarina, 88062-601, Florianópolis, Brasil

<sup>3</sup>Laboratório de Ficologia – Universidade Federal de Santa Catarina, 88062-601, Florianópolis, Brasil

\*E-mail: [fabiofneves@hotmail.com](mailto:fabiofneves@hotmail.com)

Recebido 15/05/2013

Aceito 11/06/13

### RESUMO

É crescente a aplicação do cultivo de microalgas no campo da Biotecnologia Ambiental, buscando fixação de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e obtenção de energia da biomassa. Entretanto, para essas aplicações se tornarem economicamente viáveis, é necessária a adoção de estratégias para baixar o custo de produção de microalgas. A presente pesquisa avaliou o efeito do uso de efluente doméstico tratado como meio de cultura alternativo de baixo custo sobre o crescimento e a produtividade do cultivo de *Chlamydomonas* sp. isolada de uma lagoa de tratamento de lixiviados de aterro sanitário, situada na região sul do Brasil. Três tratamentos foram testados: um controle utilizando o meio de cultura sintético TAP, outro com 50% do meio TAP e 50% do efluente e o terceiro com 100% do efluente. Não houve diferença significativa dos parâmetros de crescimento entre os tratamentos, assim como entre a produtividade alcançada nos cultivos com meio TAP e 100% efluente, atingindo valores de massa seca após 10 dias de cultivo de  $1,4 \pm 0,14 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,3 \pm 0,19 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente. Já o cultivo em meio TAP com adição de 50% do efluente apresentou a maior produtividade, atingindo um valor de massa seca médio após 10 dias de cultivo de  $1,7 \pm 0,07 \text{ g L}^{-1}$ . Os resultados demonstram que o efluente doméstico tratado tem potencial para ser utilizado como meio de cultura para o cultivo das cepas de *Chlamydomonas* sp. sem prejudicar o crescimento e a produtividade.

**Palavras-chave:** Microalgas; Efluente doméstico; Meio de Cultura Alternativo.

### 1 Introdução

As microalgas são microrganismos fotossintetizantes e os principais responsáveis pela absorção biológica de dióxido de carbono atmosférico no mundo [1]. Esses microrganismos são cultivados, principalmente, para a produção de alimento vivo, para atividades aquícolas e para a produção de biomassa microalgal como matéria-prima para extração de substâncias de interesse comercial (fertilizantes, pigmentos, corantes, alimento humano e animal, biopolímeros, alimentos funcionais, e compostos farmacológicos) [2].

O cultivo de microalgas vem sendo alvo de pesquisas, em diversos países, com o propósito de fixação de carbono presente em emissões atmosféricas e para a produção de biocombustíveis [3-12]. Entretanto, a viabilidade econômica ainda é prejudicada pelo elevado custo envolvido com o processo de produção de microalgas. Entre os fatores que mais oneram o cultivo de microalgas está a adição de nutrientes às culturas [13].

O uso de efluentes como meio de cultura alternativo para o cultivo de microalgas pode reduzir consideravelmente os

custos operacionais. Para isso, deve-se explorar o cultivo de espécies de microalgas adaptadas às condições de qualidade de água encontradas em efluentes, objetivando uma maior produtividade e resistência à contaminação por outros microrganismos [14].

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do uso de efluente doméstico tratado como meio de cultura alternativo no cultivo de *Chlamydomonas* sp. isolada de uma lagoa de tratamento de lixiviado de aterro sanitário, localizada na região sul do Brasil.

### 2 Parte Experimental

#### 2.1. Material Biológico

A microalga utilizada nesta pesquisa pertence à Divisão Chlorophyta, classe Chlorophyceae, ordem Volvocales, família Chlamydomonaceae, gênero *Chlamydomonas*. A identificação ao nível de espécie ainda não foi possível. Essa cepa foi isolada de um sistema experimental de tratamento e polimento final de lixiviado de aterro sanitário. O sistema está situado no setor experimental do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasoso (LABEFLU) e Laboratório de Resíduo

Sólidos (LARESO) do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (ENS) da Universidade Federal de Santa Catarina, na cidade de Florianópolis (SC) (Figura 1).

Segundo Fernandes [15], essa espécie é predominante no fitoplâncton de uma das lagoas pertencentes ao sistema experimental de tratamento. Valores de parâmetros de qualidade de água encontrados na lagoa estão descritos na Tabela 1.



Figura 1: Sistema experimental de tratamento e polimento final de lixiviado pertencente ao Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU – ENS/UFSC). A lagoa onde a cepa foi isolada está demarcada em vermelho [15].

Tabela 1: Valores médios obtidos no afluente da lagoa onde a cepa foi isolada. Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=20).

Variáveis	Concentração mg L <sup>-1</sup>
DQO total	2529 $\pm$ 603
DQO filtrada	2136 $\pm$ 589
DBO	820 $\pm$ 300
N-NH <sub>3</sub>	920 $\pm$ 94

Fonte: Adaptado de Fernandes [15].

## 2.2. Isolamento

A cepa de *Chlamydomonas* sp. foi isolada no Laboratório de Ficologia do Departamento de Botânica da UFSC por diluição seriada e plaqueamento em meio sólido e mantida em câmara de germinação a 14 °C, fotoperíodo 12:12, em meio Chu#10 [16].

## 2.3. Aclimação Prévia

Antes do início do experimento, a cepa foi aclimatada conforme recomendado em Voltolina *et al.* [17]. Foram utilizados inóculos em fase exponencial quando estavam adaptados às condições experimentais. As unidades experimentais foram inoculadas com um peso seco inicial médio de 0,25  $\pm$  0,02 g L<sup>-1</sup>.

## 2.4. Condição Experimental

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) do departamento de Aquicultura da UFSC. Frascos Erlenmeyers foram utilizados no experimento. Cada frasco possuía uma capacidade de 2.000 mL, sendo utilizado o volume de 1.000 mL para a cultura, o qual foi considerado como uma unidade experimental. O experimento foi realizado em sala com temperatura controlada (Figura 2), sob aeração constante, com fluxo de 0,3 L min<sup>-1</sup> de ar atmosférico enriquecido com CO<sub>2</sub> (1% CO<sub>2</sub>). As culturas foram mantidas com temperatura média de 25  $\pm$  2 °C. A iluminação foi constante, com uma intensidade de irradiância de 150  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, proporcionada por lâmpadas fluorescentes tipo Luz do Dia 80 W.



Figura 2: Unidades experimentais dispostas em sala de cultivo.

Três tratamentos foram avaliados. No Tratamento 1 (T1), o controle, as cepas foram cultivadas em meio de cultura TAP (93 mg L<sup>-1</sup> N-NH<sub>4</sub>; 81,7 mg L<sup>-1</sup> P-PO<sub>4</sub>) [18], já estabelecido para o cultivo de *Chlamydomonas* spp. No Tratamento 2 (T2), cultivou-se em um meio composto pela mistura de 50% de efluente e 50% TAP. No Tratamento 3 (T3), as cepas foram cultivadas diretamente no efluente (100% efluente). Cada tratamento foi composto por quatro repetições, distribuídas ao acaso, totalizando 12 unidades experimentais. Os meios de cultura utilizados em cada tratamento foram clorados 24 horas antes do início dos experimentos e neutralizados com tiosulfato de sódio. O pH e a turbidez das culturas foram monitorados diariamente. O experimento teve duração de dez dias.

### 2.5. Caracterização do Efluente

O efluente utilizado como meio de cultura alternativo no experimento foi coletado no final de uma estação de tratamento de esgoto (ETE). Essa ETE era composta por reator UASB complementado por processo de lodos ativados. Como etapa final, a ETE utiliza hipoclorito de sódio para desinfecção do efluente. A estação opera com uma vazão média de 50 L s<sup>-1</sup> e é projetada para atender uma população de 36.000 habitantes. Os parâmetros de qualidade de água do efluente tratado pela ETE apresentados na Tabela 2 são referentes à média de duas avaliações, uma do mês que precedeu o início do experimento e a segunda do mês em que o experimento foi executado. Os dados foram fornecidos pela companhia que opera a estação.

Tabela 2: Valores médios obtidos no efluente da ETE utilizado como meio de cultura alternativo. Valores expressos como média ± desvio padrão.

Parâmetro	Efluente	Meio TAP
Temperatura (°C)	21,7 ± 4,7	nd.
DBO (mg L <sup>-1</sup> )	10,7 ± 3,0	nd.
DQO (mg L <sup>-1</sup> )	106,3 ± 5,3	nd.
Fósforo Total (mg L <sup>-1</sup> P)	6,1 ± 2,0	81,7
Sólidos Suspensos (mg L <sup>-1</sup> )	41,0 ± 9,9	nd.
Nitrogênio-NH <sub>4</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	44,2 ± 6,5	93,0
Nitrogênio-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	0,2 ± 0,1	nd.
Nitrogênio-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	1,9 ± 0,2	nd.
Nitrogênio Total (mg L <sup>-1</sup> )	57,0 ± 9,8	nd.
Alcalinidade Total (mg L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	200,6 ± 66,3	nd.
pH	7,3 ± 0,1	nd.

onde nd. = valor não determinado.

Os valores de nitrogênio amoniacal e fósforo encontrados no meio TAP foram determinados pelas concentrações de reagentes P.A. utilizadas no preparo do meio segundo Goman e Levine [18].

### 2.6. Avaliação do Crescimento

Para quantificar a densidade celular, diariamente, de cada unidade experimental, foi coletada uma amostra da cultura através de seringas com volume de 20 mL. A contagem de células foi realizada em microscópio com auxílio de câmara de Neubauer. Foram avaliados densidade celular máxima (DCM), tempo de cultivo, taxa de crescimento específico ( $\mu$ ), número de duplicações por dia (k) e tempo de duplicação conforme Derner [19].

### 2.7. Determinação de Massa Seca e Produtividade

Para determinar a produtividade, a massa seca foi calculada no início de cada experimento e a cada dois dias após seu início. Amostras foram coletadas, filtradas e secas em estufa bacteriológica, conforme Arredondo-Vega e Voltolina [20]. A produtividade em gramas por litro por dia (g L<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>) foi calculada a partir dos dados de massa seca final e do tempo de cultivo.

### 2.8. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA,  $\alpha < 0,05$ ). Quando detectadas diferenças significativas, foi aplicado o teste de Tukey para comparação entre as médias dos tratamentos [21].

## 3 Resultados e discussões

### 3.1. Parâmetros de Crescimento

A Figura 3 demonstra os valores de densidade celular ao longo dos dias de cultivo para cada tratamento (média entre quatro repetições de cada tratamento). Foram determinados os seguintes parâmetros de crescimento: densidade celular máxima (DCM), tempo de cultivo, velocidade de crescimento, tempo de duplicação e taxa de crescimento específico. O gráfico sugere que o Tratamento 2, contendo 50% de efluente doméstico tratado, alcançou a maior densidade celular, seguida do Tratamento 3, culturas cultivadas em 100% do efluente doméstico tratado. Ambos valores são maiores que aquele proveniente do Tratamento 1 (controle). Entretanto, esta diferença não é significativa estatisticamente. O tempo de cultivo foi de 9,25 ± 1,5 dias para o T1, 8,75 ± 1,5 dias para o T2 e 8 ± 1,6 dias para o T3. Quanto menor o tempo de cultivo, maior será a velocidade do crescimento, possivelmente aumentando a produtividade e diminuindo gastos operacionais envolvidos. Contudo, o tempo de cultivo não apresentou diferenças estatisticamente significativas.

Durante os primeiros cinco dias de cultivo, as culturas em 100% de efluente doméstico tratado (T3) apresentaram aumento mais expressivo da densidade celular, seguido das culturas com 50% de efluente doméstico tratado adicionado ao meio TAP (T2). A velocidade de multiplicação celular durante os dias iniciais foi influenciada pelo meio de cultura, estabilizando ao final do cultivo e não resultou em diferença na

DCM atingida nos três tratamentos. Jiang *et al.* [22] relatam que a microalga marinha *Nannochloropsis* sp. quando cultivada em água salgada com a adição de 10%, 30%, 50% e 80% de efluente doméstico e quando cultivada em 100% efluente doméstico apresenta maior crescimento durante os primeiros dias, conforme aumentou a adição do efluente ao meio, atribuindo este resultado à concentração dos nutrientes. O efluente tratado utilizado no presente trabalho não contém uma maior concentração de nitrogênio e de fósforo do que a concentração inserida no meio de cultura TAP. É possível que a maior concentração de carbono orgânico e/ou a presença de outros compostos que estão presentes no efluente, tenham influenciado o crescimento nos primeiros dias de cultivo. Outra hipótese, é que tenha ocorrido a remineralização do efluente em decorrência da decomposição da matéria orgânica, aumentando a concentração dos nutrientes dissolvidos ao longo do tempo. No entanto, uma caracterização mais apurada do efluente utilizado se faz necessária para a confirmação dessas hipóteses.

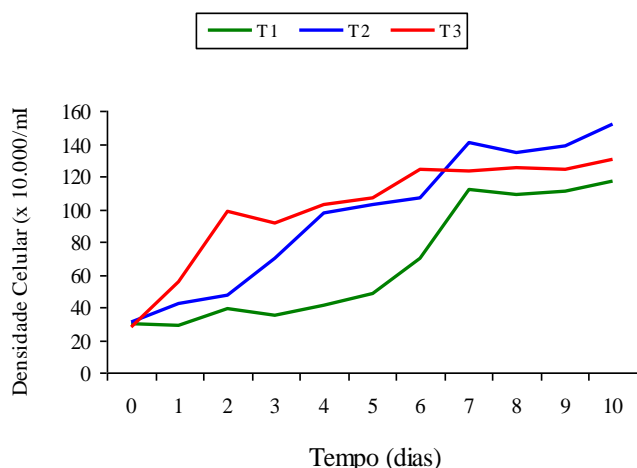


Figura 3: Variação da densidade celular ( $10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) durante o cultivo. Cada linha refere-se à média entre quatro repetições de cada tratamento. T1-Meio TAP; T2-50% Efluente; T3-100% Efluente.

Uma vez que a DCM e o tempo de cultivo foram estatisticamente similares para os três tratamentos, os outros parâmetros de crescimento (taxa de crescimento específico  $-\mu$ , número de duplicações por dia e tempo de duplicação) também não diferiram estatisticamente (Tabela 3). Em comparação com dados encontrados na literatura, a cepa isolada na presente pesquisa apresentou crescimento compatível. Tang *et al.* [23], ao cultivar *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella pyrenoidosa*, também Chlorophyta, em meio de cultura sintético, em temperatura de  $25^\circ\text{C}$  e pH 7, sem adição de  $\text{CO}_2$ , relatam uma taxa de crescimento específico ( $\mu$ ) de 0,5 e 0,6 respectivamente. Os mesmos autores relatam que as mesmas espécies (*S. obliquus* e *C. pyrenoidosa*), quando cultivadas nas mesmas condições descritas acima, mas com a adição de 5% (v/v) de  $\text{CO}_2$  nas culturas, apresentam, ambas, uma taxa de crescimento

específico de 0,9 [23]. Já Chiu *et al.* [24], cultivando a microalga marinha da divisão Ochrophyta, *Nannochloropsis oculata*, em meio F/2, em uma temperatura de  $26^\circ\text{C}$  e pH 7,8, sem enriquecimento de  $\text{CO}_2$  e com adição de 2% (v/v)  $\text{CO}_2$ , apresentou uma taxa de crescimento específico de 0,19 e 0,57, respectivamente. No Brasil, Radman *et al.* [25] cultivaram microalgas isoladas de lagoas de tratamento de efluentes com alta alcalinidade e pH 10. Esses autores relatam que as microalgas que apresentaram melhor resultado de crescimento foram cultivadas com a adição de 12% (v/v) de  $\text{CO}_2$  em temperatura de  $30^\circ\text{C}$  em pH entre 8 e 9. Essas microalgas foram: *Spirulina* sp., *S. obliquus* e *Chlorella vulgaris*, as três alcançando uma taxa de crescimento específico de 0,2, e um tempo de duplicação próximo a 3 dias. Sendo assim, é possível que a *Chlamydomonas* sp. isolada neste trabalho possa crescer mais eficientemente com o aumento da introdução de  $\text{CO}_2$  nos cultivos. Contudo, os dados alcançados neste trabalho com adição de 1% (v/v) de  $\text{CO}_2$  são satisfatórios comparados com os dados descritos acima.

Tabela 3: Valores de Densidade Celular Máxima, Tempo de Cultivo, Velocidade de Crescimento, Tempo de Duplicação, Taxa de Crescimento e Produtividade nos diferentes tratamentos. Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Letras minúsculas diferentes representam diferenças estatísticas.

Parâmetro de Crescimento	Tratamento1 (Meio TAP)	Tratamento2 (50% Eflu.)	Tratamento3 (100% Eflu.)
Densidade Celular Máxima (células $\text{mL}^{-1}$ )	$121 \pm 28,4 \times 10^4$ a	$154 \pm 12,6 \times 10^4$ a	$134 \pm 17,8 \times 10^4$ a
Tempo de Cultivo (dias)	$9,25 \pm 1,5$ a	$8,75 \pm 1,5$ a	$8 \pm 1,6$ a
Velocidade de Crescimento	$0,23 \pm 0,04$ a	$0,27 \pm 0,04$ a	$0,28 \pm 0,09$ a
Tempo de Duplicação (dias)	$4,4 \pm 0,98$ a	$3,7 \pm 0,53$ a	$3,8 \pm 1,27$ a
Taxa de Crescimento Específico	$0,50 \pm 0,09$ a	$0,56 \pm 0,09$ a	$0,60 \pm 0,15$ a
Produtividade ( $\text{g L}^{-1}\text{dia}^{-1}$ )	$0,14 \pm 0,01$ a	$0,17 \pm 0,02$ b	$0,14 \pm 0,02$ a

### 3.2. Produtividade

O Tratamento 2 (T2) foi o que apresentou maior massa seca, alcançando a média de  $1,7 \pm 0,07 \text{g L}^{-1}$ . Já os tratamentos 1 (T1) e 3 (T3) não apresentaram diferença significativa, alcançando a média de  $1,4 \pm 0,14 \text{g L}^{-1}$  e  $1,3 \pm 0,19 \text{g L}^{-1}$  respectivamente (Figura 4). Quanto à produtividade em  $\text{g L}^{-1}\text{dia}^{-1}$ , considerando que todos os tratamentos apresentaram estatisticamente o mesmo tempo de cultivo, a adição de 50% de efluente doméstico ao meio de cultura TAP resultou no maior valor, conforme descrito na Tabela 3.

Contraopondo os dados apresentados na Figura 3, a Figura 4 demonstra que durante os primeiros dias de cultivo não houve diferença na velocidade de aumento da massa seca, indicando que pode ter ocorrido diferença de volume celular entre os tratamentos. No entanto, no presente trabalho não foi realizada a avaliação do volume celular. O resultado sugere que algum fator existente no efluente aumenta a multiplicação das células de *Chlamydomonas* sp. durante os primeiros dias nos tratamentos T2 e T3, embora diminua o seu volume celular. Já as células de *Chlamydomonas* sp. quando cultivadas em meio TAP (T1), supõe-se que aumentam o seu volume celular durante os primeiros dias e se multiplicam diminuindo o volume celular a partir do quinto dia de cultivo.

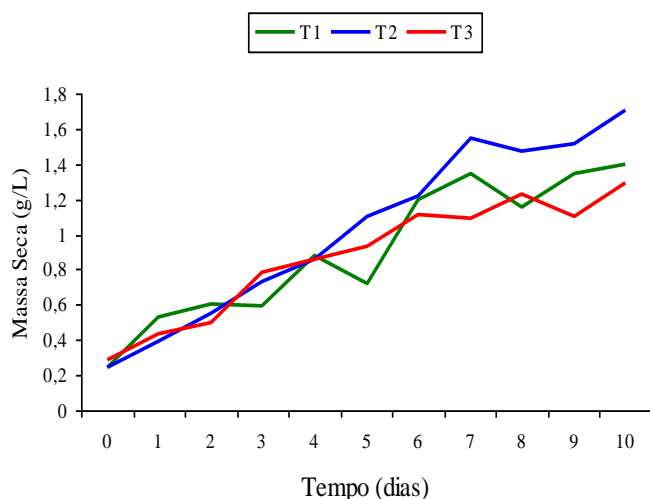


Figura 4: Variação da massa seca ( $\text{g L}^{-1}$ ) durante o cultivo. Cada linha refere-se à média entre quatro repetições de cada tratamento. T1-Meio TAP; T2-50% Efluente; T3-100% Efluente.

Tang *et al.* [23], em cultivos de *S. obliquus* sem a adição de  $\text{CO}_2$  e com a adição de 5% (v/v) de  $\text{CO}_2$ , relatam uma concentração máxima de biomassa em massa seca de  $1,05 \pm 0,02 \text{ g L}^{-1}$  e  $1,80 \pm 0,02 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente. Os mesmos autores relatam uma concentração máxima de biomassa em massa seca para *C. pyrenoidosa* quando cultivada sem a introdução de  $\text{CO}_2$  e com 5% (v/v) de  $\text{CO}_2$  de  $0,87 \pm 0,01$  e  $1,44 \pm 0,01$  respectivamente. Quanto à produtividade alcançada nas mesmas condições descritas acima para *S. obliquus* e *C. pyrenoidosa*, os autores relatam valores máximos alcançado de  $0,08 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (0,03%  $\text{CO}_2$ ),  $0,15 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (5%  $\text{CO}_2$ ) e  $0,06 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (0,03%  $\text{CO}_2$ ),  $0,13 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (5%  $\text{CO}_2$ ) respectivamente. Chiu *et al.* [24] relatam uma concentração máxima de biomassa em massa seca de *N. oculata* de  $1,2 \text{ g L}^{-1}$  quando cultivada em meio de cultura sintético,  $26^\circ\text{C}$ , sob a introdução de 2% (v/v) de  $\text{CO}_2$ . Yoo *et al.* [26] relatam uma produtividade de  $0,21 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  e  $0,10 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  para cultivos das microalgas *Scenedesmus* sp. e *Chlorella vulgaris*

respectivamente, quando cultivadas em meio sintético (BG11), em  $25^\circ\text{C}$ , sob a introdução de 10% (v/v)  $\text{CO}_2$ . Já Radman *et al.* [25] relatam uma produtividade para *Spirulina* sp. *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris* de  $0,08 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ,  $0,05 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  e  $0,08 \text{ g L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  respectivamente. Os resultados alcançados de massa seca e de produtividade nas culturas de *Chlamydomonas* sp. utilizadas nesta pesquisa demonstram que esta cepa, quando cultivada em efluente tratado como meio de cultura, pode ser uma alternativa para produção de biomassa microalgal de baixo custo.

A biomassa acumulada em gramas de massa seca por litro de cultura não apresentou diferença significativa entre os cultivos em meio TAP (T1) e em 100% efluente tratado (T3), ambos inferiores ao cultivo em meio TAP com adição de 50% efluente (T2) (Figura 5).

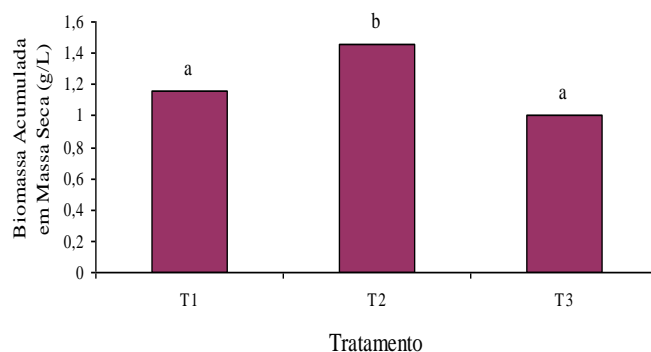


Figura 5: Biomassa acumulada durante o cultivo, representada em massa seca ( $\text{g L}^{-1}$ ). Cada barra refere-se à média entre quatro repetições de cada tratamento. T1-Meio TAP; T2-50% Efluente; T3-100% Efluente. Letras minúsculas diferentes representam diferenças estatísticas.

Embora não tenha havido diferença significativa entre a densidade celular encontrada nos três tratamentos, o Tratamento 2 apresentou a maior biomassa acumulada. Este fato sugere que a adição de 50% de efluente tratado ao meio de cultura TAP influenciou o volume celular final e/ou a composição bioquímica final, consequentemente alterando a densidade (massa) média das células. Possivelmente, a presença de carbono orgânico e/ou outros compostos encontrados no efluente doméstico tratado, em conjunto com a maior concentração de nutrientes presentes no meio TAP, proporcionou o crescimento mixotrófico (combinação de  $\text{CO}_2$  e substrato orgânico como fontes de carbono) [27]. Em outra hipótese, o Tratamento 2, ao diluir o efluente com o meio de cultura TAP, diminuiu a concentração de algum nutriente disponível no efluente capaz de inibir o aumento da massa seca, embora tenha mantido uma concentração de nutrientes capaz de resultar em maior massa seca que as culturas cultivadas em meio TAP (T1), as quais apresentaram crescimento

estritamente autotrófico. Jiang, *et al.* [22] relatam que o meio de cultura composto pela adição de 50% de efluente doméstico à água salgada proporciona uma maior biomassa final para *Nannochloropsis* sp. do que quando cultivada em meio sintético convencional, meio F/2, atingindo valores de  $0,21 \text{ g L}^{-1}$  e  $0,16 \text{ g L}^{-1}$  respectivamente. Esses autores atribuem o maior acúmulo de biomassa à presença de maior concentração de carbono orgânico, o que promove o crescimento mixotrófico nas culturas. Os autores também relatam que a concentração dos nutrientes influenciou na composição bioquímica das microalgas cultivadas.

### 3.3 pH

Os valores médios do pH, medidos diariamente após o início dos cultivos, são apresentados na Figura 6. O pH inicial do meio de cultura composto por 100% de efluente doméstico tratado (T3) foi ligeiramente superior ( $8,0 \pm 0,2$ ) ao pH do meio de cultura TAP (T1) ( $7,6 \pm 0,1$ ), tendo o pH inicial do Tratamento 2 apresentado um valor intermediário. Os valores de pH apresentam tendência de variação discreta para todos os tratamentos, obtendo um valor médio de pH ao longo do cultivo de  $8,1 \pm 0,1$  nos três tratamentos.

Apesar da adição de ar enriquecido contendo 1% (v/v) de  $\text{CO}_2$ , não houve redução do pH, provavelmente, devido ao elevado poder tampão encontrado nos meios de cultura utilizados na presente pesquisa. A Figura 6 demonstra que os tratamentos que continham meio de cultura TAP (T1 e T2) apresentaram uma menor oscilação do pH, provavelmente, devido à presença de Base Tris no meio, aumentando o seu poder tampão. A sutil elevação do pH nos primeiros dias de cultivo sugere o aumento da produtividade fotossintética.

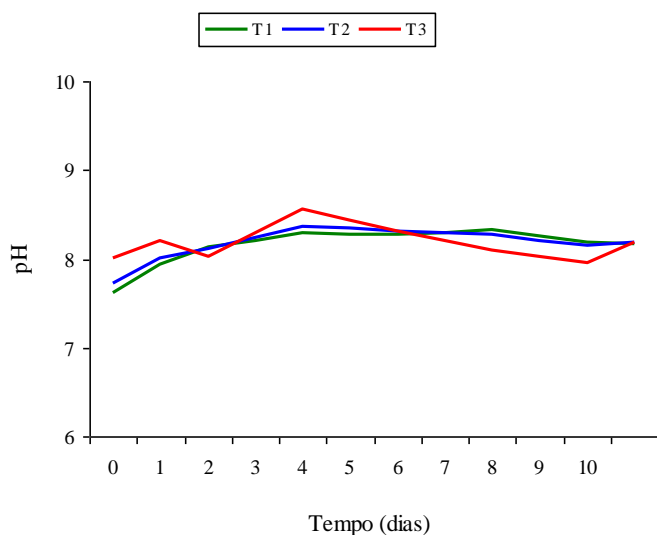


Figura 6: Variação do pH durante o desenvolvimento das culturas. Cada linha refere-se à média entre quatro repetições de cada tratamento. T1-Meio TAP; T2-50% Efluente; T3-100% Efluente.

### 3.4. Turbidez

Os valores médios de turbidez medidos diariamente, após o início dos cultivos, são apresentados na Figura 7. Os resultados estão de acordo com os apresentados no gráfico de variação da massa seca durante o desenvolvimento das culturas, apresentado na Figura 4, o que reforça a hipótese de variação do volume celular entre os tratamentos.

Através da análise de regressão das linhas geradas pela relação entre a massa seca e a turbidez, as seguintes equações foram encontradas:

$$y=0,002x+0,0278 \quad (R^2 = 0,9607) \quad (1)$$

$$y=0,002x+0,0006 \quad (R^2 = 0,9989) \quad (2)$$

$$y=0,0017x+0,0898 \quad (R^2 = 0,9677) \quad (3)$$

As equações 1, 2 e 3 são referentes aos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. Nas equações, y equivale à massa seca ( $\text{g L}^{-1}$ ) e x equivale à turbidez. Através do coeficiente de regressão linear, presume-se que a utilização dos dados de turbidez para o acompanhamento da produtividade nos cultivos de *Chlamydomonas* sp. isolada nesta pesquisa é confiável.

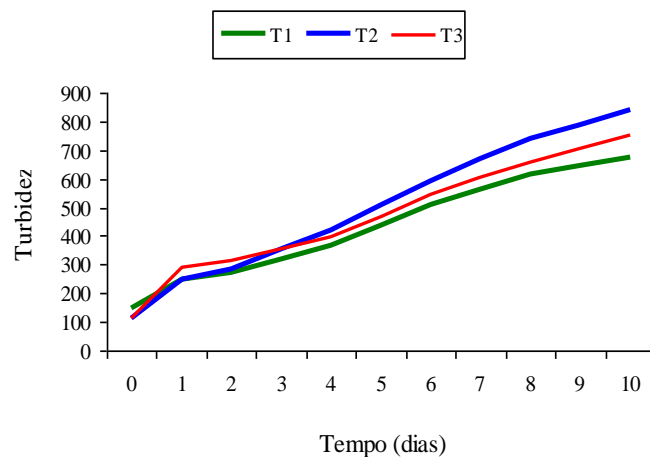


Figura 7: Variação da turbidez em unidades nefelométricas durante o desenvolvimento das culturas. Cada linha refere-se à média entre quatro repetições de cada tratamento. T1-Meio TAP; T2-50% Efluente; T3-100% Efluente.

## 4 Conclusões

A cepa de *Chlamydomonas* sp. estudada apresentou potencial de crescimento quando cultivada em efluente doméstico tratado como meio de cultura alternativo. Não houve influência significativa do efluente sobre o crescimento das culturas, quando comparadas ao meio de cultura sintético (meio TAP).

O uso do meio TAP, com adição de 50% do efluente estudado, apresentou o maior acúmulo de biomassa, atingindo uma massa seca de  $1,7 \pm 0,07 \text{ g L}^{-1}$ . Esta cepa, quando cultivada diretamente no efluente (100%), atingiu uma massa seca de  $1,4 \pm 0,14 \text{ g L}^{-1}$ . O uso do efluente como meio de cultura alternativo mostrou-se eficiente. Portanto, pode ser uma alternativa interessante para baixar o custo de produção de biomassa microalgal.

Estudos futuros deverão avaliar o crescimento e a produtividade das cepas cultivadas com o meio de cultura alternativo proposto nesta pesquisa, em volumes maiores; além de parâmetros econômicos, remoção de nutrientes, e composição bioquímica e microbiológica da biomassa produzida.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e à CAPES pelo auxílio financeiro. Agradecem ao Prof. Paulo Belli coordenador do Laboratório de Efluentes Líquidos e Gasosos (LABEFLU) por possibilitar o isolamento da cepa estudada. Agradecem à companhia responsável pela ETE por fornecer o efluente.

### EFFECT OF TREATED DOMESTIC WASTEWATER USED AS CULTURE MEDIUM ON THE GROWTH AND PRODUCTIVITY OF *Chlamydomonas* sp. STRAIN ISOLATED FROM LANDFILL LEACHATE

**ABSTRACT:** Microalgae have been cultured increasingly in order to fix carbon dioxide and produce biofuels from the biomass. However, it is important to develop low cost strategies for microalgae production in order to turn this into a viable alternative of renewable energy. The present investigation studied the effect of treated wastewater used as an alternative culture medium for growth and productivity of a *Chlamydomonas* sp. strain isolated from landfills leachate of a treatment pond located in Southern Brazil. Three culture media were tested: a control consisting of a synthetic TAP medium, another one consisting of 50% TAP medium and 50% wastewater, and another one consisting of 100% wastewater. The growth parameters did not show any significant differences among the three culture media. Also, productivity did not present any significant difference among the cultures with TAP medium and with 100% wastewater, resulting in dry weight values of  $1,4 \pm 0,14 \text{ g/L}$  and  $1,3 \pm 0,19 \text{ g/L}$  respectively. The culture with 50% TAP medium and 50% wastewater showed the highest productivity, showing an average dry weight value of  $1,7 \pm 0,07 \text{ g/L}$ . The results indicate that treated wastewater can be used as an alternative culture medium for *Chlamydomonas* sp. strain without negative effects on growth and productivity, and possible leading to a decrease in production costs.

**Keywords:** Microalgae. Wastewater. Alternative Culture Medium.

### Referências

- [1] FALKOWSKI, P.G.; RAVEN, J.A. Aquatic Photosynthesis. Oxford. Blackwell Scientific Publishers, **1997**. 374 p.
- [2] DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; DE CARVALHO, S. M.; FETT, R. Ciênc. Rural, Santa Maria, Vol. 36(6), p.1959-1967, **2006**.
- [3] ONO, E.; CUELLO, J.L. Energy. Vol. 29, p.1651-1657, **2004**.
- [4] CHISTI, Y. Biotech. Advances. Vol. 25, p. 294-306, **2007**.
- [5] MORAIS, M.G.; COSTA, J.A.V. J. Biotechnol.. Vol. 129, p.439-445, **2007**.
- [6] MORAIS, M.G.; COSTA, J.A.V. Química Nova, Vol.131(5), p.1038-1042, **2008**.
- [7] JACOB-LOPES, E.; LACERDA, L.M.C.F.; FRANCO, T.T. Biochem. Eng. J., Vol. 40(1), p.27-34, **2008**.
- [8] CHIU, S.; KAO, C.; CHEN, C.; KUANT, T.; ONG, S.; LIN, C. Bioresource Technol., Vol. 99(9), p.3389-3396, **2008**.
- [9] CHIU, S.; KAO, C.; TSAI, M.; ONG, S.; CHEN, C.; LIN, C. Bioresource Technol., Vol. 100(2), p.833-838, **2009**.
- [10] BILANOVIC, D.; ANDARGATCHEW, A.; KROEGER, T.; SHELEF, G. Eng. Convers. Manage., Vol. 50(2), p.262-267, **2009**.
- [11] YOO, C.; JUN, S.; LEE, J.; AHN, C.; OH, H. Bioresource Technol., Vol. 101, p.71-74, **2010**.
- [12] DOUSKOVA, I.; KASTANEK, F.; MALETEROVA, Y.; KASTANEK, P.; DOUCHA, J.; ZACHLEDER, V. Eng. Convers. Manage. Vol. 51, p.606-611, **2010**.
- [13] SHEEHAN, J. *et. al.* A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program: biodiesel from algae. US Department of Energy's, Office of Fuels development. NREL/TP-580-24190, **1998**. 328p.
- [14] KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, H. V. Trends Biotechnol., Vol. 28, p.371-380, **2010**.
- [15] FERNANDES, Heloisa. A dinâmica da biota em um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de lixiviado de aterro sanitário. 2009. 186 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental - Mestrado) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, **2009**.
- [16] ANDERSEN, R.A. Algal Culturing Techniques. Elsevier Academic Press, **2005**. 578p.
- [17] VOLTOLINA, D.; NIEVES, M.; NAVARRO, G. Aquacult. Eng., Vol. 19, p.7-15, **1998**.
- [18] GORMAN, D.S.; LEVINE, R.P. P. Natl. Acad. Sci., Vol. 54, p.1965-1969, **1965**.
- [19] DERNER, Roberto Bianchini. Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados. 2006. 140 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos - Doutorado) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, **2006**.
- [20] ARREDONDO-VEGA, B.O.; VOLTOLINA, D. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones del Noroeste -CIBNOR(México) La Paz, **2007**. 97p.
- [21] ZAR, J.H. Biostatistical analysis. 3. ed. New Jersey: Prentice Hall, **1996**. 622p.
- [22] JIANG, L.; LUO, S.; FAN, X.; YANG, Z.; GUO, R. Appl. Energ., Vol. 88, p.3336-3341, **2011**.

- [23] TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J. *Bioresource Technol.*, Vol. 102(3), p.3071-3076, **2011**.
- [24] CHIU, S.Y.; KAO, C.Y.; TSAI, M.T.; ONG, S.C.; CHEN, C.H.; Lin, C.S. *Bioresource Technol.*, Vol. 100, p.833-838, **2009**.
- [25] RADMANN, E.M.; CAMERINI, F.V.; SANTOS, T.D.; COSTA, J.A.V. *Energ. Convers. Manage.*, Vol. 52(10), p.3132-3136, **2011**.
- [26] YOO, C.; JUN, S.Y.; LEE, J.Y.; AHN, C.Y.; OH, H.M. *Bioresource Technol.*, doi: 10.1016/j.biortech.2009.03.030, **2009**.
- [27] OHSE, S.; DERNER, R.B.; OZÓRIO, R.A.; CUNHA, P.C.R.; LAMARCA, C.P.; SANTOS, M.E.; MENDES, L.B.B. *Insula*, Vol. 36, p.39-74, **2007**.