

**II- 464 Avaliação comparativa do crescimento e produção lipídica da espécie de microalga (desmodesmus subspicatus) utilizando metabolismos autotrófico e heterotrófico em efluente doméstico****II - 464 Comparative evaluation of growth and lipid production of the microalga species (desmodesmus subspicatus) using autotrophic and heterotrophic metabolisms in domestic waste**

DOI:10.34117/bjdv6n1-163

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 15/01/2020

**Marcella Vianna Cabral Paiva**

Bióloga/Cientista Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco. Mestre e Doutora em Engenharia Civil, área de concentração em tecnologia ambiental e recursos hídricos.

Funcionária da Companhia Pernambucana de Saneamento-COMPESA.

**Endereço:** Avenida Presidente Tancredo Neves, s/n - Centro - Petrolina – PE, Brasil - CEP: 56.304-010 - Brasil

E-mail: marcellavcpaiva@yahoo.com.br

**Maria de Lourdes Florêncio do Santos**

Engenheira Civil, Mestre em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Escola de Engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo, Doutora em Ciências Agrícolas e Ambiental (Tecnologia Ambiental) pela Universidade de Wageningen – Holanda. Professora Titular da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências, Departamento de Engenharia Civil, Grupo de Saneamento Ambiental.

**Endereço:** Avenida Acadêmico Hélio Ramos s/n Cidade Universitária 50670-530 - Recife, PE - Brasil.

E-mail: flor@ufpe.br

**Sílvia Mariana da Silva Barbosa**

Bióloga/Cientista Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco. Mestre e Doutora em Engenharia Civil, área de concentração em tecnologia ambiental e recursos hídricos.

Coordenadora Técnica na Empresa Sanvale Soluções Ambientais.

**Endereço:** Rua T, Quadra S nº 24ª, - Distrito Industrial – Petrolina- PE, Brasil CEP: 56326-000-Brasil.

E-mail: barbosasms@gmail.com

**Miriam Cleide Cavalcante de Amorim**

Química Industrial e Engenheira Química pela Universidade Católica de Pernambuco. Mestre e Doutora em Engenharia Química. Professora Adjunta da Universidade Federal do Vale do São Francisco

**Endereço:** Av. Antônio C. Magalhães, 510 - Country Club, Juazeiro - BA, Brasil CEP: 48902-300- Brasil.

E-mail: miriamcleidea@gmail.com

**Thaimara de Araújo Souza**

Bióloga pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

**Endereço:** Av. José de Sá Maniçoba, S/N - Centro, Petrolina – PE, Brasil, CEP: 56304-917-Brasil.

E-mail: thaimara.camatto@hotmail.com

**Larissa Ribeiro Martins**

Bióloga pela Universidade Estadual da Bahia-UNEB. Mestre e Doutora em Engenharia Civil, área de concentração em tecnologia ambiental e recursos hídricos

**Endereço:** Rua Ilha Bela, nº 200 – Bairro Papagaio, Feira de Santana-BA, Brasil: CEP: 44059230.

E-mail: larissarm.bio@gmail.com

**RESUMO**

As microalgas são uma alternativa de baixo custo e elevada eficiência para remoção de nutrientes em excesso e outros contaminantes em unidades de tratamento terciário. O trabalho teve o intuito de avaliar produção lipídica da espécie *Desmodesmus subspicatus* e a eficácia da remoção de nutrientes e matéria orgânica de efluente da Estação de Tratamento de Esgoto –ETE Centro, Petrolina-PE, coletados após decantadores secundários (DS). Os cultivos foram mantidos em laboratório com temperatura controlada (25°C) e foram avaliados o metabolismo autotrófico, com iluminação por 24 horas através de lâmpadas fluorescentes e heterotrófico, mantidas sem iluminação. As análises físico-químicas do efluente pós-DS, bem como do líquido após cultivo e que foram centrifugados e separados da biomassa foram realizadas no Laboratório de Engenharia Ambiental (LEA), localizada em Juazeiro, Bahia. A espécie *Desmodesmus subspicatus*, se adaptou ao efluente pós-DS e apresentou crescimento significativo, uma densidade celular máxima (DCMax) de  $2,33 \times 10^7$  cel/mL no décimo dia de cultivo com inóculo inicial de 20% e efluente com filtração. Também apresentou uma alta eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal, principalmente nos cultivos de metabolismo autotróficos, com remoção entre 94% a 99%. O cultivo heterotrófico da espécie de microalga também apresentou uma eficiência satisfatória de remoção de nutrientes e matéria orgânica do efluente pós-DS, contudo, em decorrência da menor densidade de microalgas, apresentou eficiências mais baixas quando comparadas ao do cultivo autotrófico. O teste estatístico de Kruskal-Wallis e Dunn mostrou que houve diferença quando comparados os resultados de densidade celular dos dois metabolismos aplicados, contudo não houve diferença estatísticas na comparação da filtração do efluente. Os resultados de percentual lipídico também demonstraram um maior acúmulo nos cultivos com metabolismo autotrófico.

**Palavras-chave:** Microalgas, tratamento terciário e remoção de nutrientes.

**ABSTRACT**

Microalgae are a low cost and high efficiency alternative for removing excess nutrients and other contaminants in tertiary treatment units. The objective of this work was to evaluate the lipid production of the species *Desmodesmus subspicatus* and the efficiency of nutrient and organic matter removal from the Sewage Treatment Plant - ETE Centro, Petrolina-PE, collected after secondary decanters (DS). The cultures were kept in a temperature controlled laboratory (25 ° C) and the autotrophic metabolism was evaluated, with illumination for 24

hours by fluorescent and heterotrophic lamps, maintained without illumination. The physicochemical analyzes of the post-DS effluent, as well as the liquid after cultivation that were centrifuged and separated from the biomass, were performed at the Environmental Engineering Laboratory (LEA), located in Juazeiro, Bahia. *Desmodesmus subspicatus* adapted to post-DS effluent and showed significant growth, a maximum cell density (DCMax) of  $2.33 \times 10^7$  cell / mL on the tenth day of cultivation with initial inoculum of 20% and effluent with filtration. It also showed a high ammonia nitrogen removal efficiency, especially in autotrophic metabolism crops, with removal between 94% to 99%. The heterotrophic cultivation of microalgae species also presented a satisfactory efficiency of nutrient and organic matter removal from post-DS effluent, however, due to the lower microalgae density, it presented lower efficiencies when compared to autotrophic cultivation. Kruskal-Wallis and Dunn statistical test showed that there was a difference when comparing the cell density results of the two applied metabolisms, however there was no statistical difference in the comparison of effluent filtration. The results of lipid percentage also showed a higher accumulation in the cultures with autotrophic metabolism.

**Keywords:** Microalgae, tertiary treatment and nutrient removal.

## 1. INTRODUÇÃO

Considerando que efluentes de tratamentos secundários de esgoto doméstico, ainda contém altas concentrações de nutrientes (nitrogênio e fósforo), deve-se portanto, antes da descarga do efluente em corpos receptores, que estes recebam um pós-tratamento adequado. As microalgas podem ser exploradas não apenas para remover estes nutrientes das águas residuárias, mas também para a produção simultânea de biomassa de algas e lipídeos, bem como a uma tecnologia biofixação de dióxido de carbono, que pode reduzir as emissões de carbono de todo o processo de tratamento ou de indústrias (ARBIB et al. 2012).

No metabolismos autotrófico, as microgas através da fotossíntese, conseguem captar  $\text{CO}_2$  da atmosfera ou do meio e converter em compostos orgânicos. No metabolismo heterotrófico, as espécies utilizam uma fonte orgânica externa para captação de energia e carbono, não necessitam de luz para sobreviver e por este motivo não realizam fotossíntese (BUMBAK et al., (2011). Através dos processos de assimilação, as microalgas conseguem captar as formas inorgânicas de nitrogênio ( $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  e  $\text{NH}_4^+$ ) e produzir compostos orgânicos. Os fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) presentes no meio são captados pelas microalgas e incorporados em compostos orgânicos como consequência da fosforilação, necessária para produção de ATP(adenosina trifosfato) (CAI et al, 2013). Sendo as águas residuárias ricas em nitrogênio e fósforo, a sua aplicação como meio de cultura para microalgas é uma forma de reduzir os custos de produção de produção de biomassa para produção de lipídios, por exemplo, e o impacto ambiental negativo do consumo de água.

A utilização de microalgas em processos de tratamento de águas residuárias podem ser em sistemas abertos, fechados ou híbridos. O cultivo de sistema aberto compreendem lagoas de alta taxa, lagoas de rolamento (*raceway ponds paddle*), tanques e lagoas circulares. O cultivo em sistema fechado pode ser realizado em fotobiorreatores tubulares, de painel plano ou do tipo carrossel (MENDOZA et al. 2013). E por fim o cultivo em sistema híbrido que une as vantagens, em duas fases, com utilização dos dois sistemas acima citados. Primeiramente é realizado o cultivo em um reator fechado e depois a biomassa é transportada para lagoas abertas (CAI et al., 2013). E para otimizar a técnica de crescimento de microalgas estão sendo desenvolvidos experimentos em laboratório que são necessários para identificação das melhores forma de cultura, ou seja, escolher qual a via metabólica, condições físico-químicas e microbiológicas do meio que se pretende utilizar para maximizar a eficiência de remoção dos contaminantes presentes nos efluentes e também da biomassa e seus subprodutos (GOUVEIA, 2011).

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Nos experimentos de cultivo da espécie *Desmosdemus subspicatus* foram utilizados reatores com volume de 2 litros, usando o efluente após tratamento no decantador secundário da Estação de Tratamento de Esgoto – ETE Centro-Petrolina, PE. Para o desenvolvimento da “cultura estoque” foram utilizadas cepas puras da espécie de microalga das coleções do Laboratório de Produção de Alimento Vivo (LAPAVI), da Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE. As cepas puras foram transferidas para erlemeyers de 500 mL, com adição de meio de cultura sintético contendo fontes de nitrogênio, fósforo, metais em concentrações traço, para isso foi utilizado o meio de cultura ASP2 (PROVASOLI et al., 1957), além da vitamina do complexo B (B7 e B12) e água filtrada e clorada, utilizando hipoclorito de sódio em pó para cloração e a descloração com tiosulfato de sódio, além da aplicação da aeração.

A temperatura do ambiente foi mantida constante, aproximadamente 25°C e a medição foi realizada por termômetro instalado no laboratório. A iluminação do cultivo autotrófico foi realizada através de lâmpadas fluorescentes, com a manutenção de luminosidade em aproximadamente  $\pm 2.300$  lux e a medição da intensidade de luz foi realizada através do luxímetro digital. No metabolismo heterotrófico não houve iluminação.

Para efeitos de mistura da cultura, foram utilizadas bombas de aquário simples, ligadas a mangueiras de silicone e acopladas aos frascos de vidro, para promover o borbulhamento de

ar (0,2 L/min) para evitar a sedimentação das células. Na Figura 01 estão demonstradas as garrafas contendo as “culturas estoques” em laboratório.

**Figura 01:** Culturas estoques de *Desmodesmus subspicatus* em desenvolvimento



Foram avaliados os inóculos iniciais de microalga de 10% e 20% em relação ao volume total do reator ( 2 litros), para verificar se o cultivo com maior densidade inicial de células poderia trazer benefícios para remoção de nutrientes e matéria orgânica, ou se apresentaria maior crescimento celular . Também foi testada a filtração e não filtração do efluente para avaliar se haveria uma remoção de organismos predadores (protozoários, rotíferos e etc.), para isto foram utilizadas membranas

Para avaliação da densidade celular, foi realizada a contagem através da utilização do microscópio óptico para monitoramento do crescimento das microalgas em função do tempo de cultivo de 15 dias em cada um dos inóculos iniciais aplicados. As alíquotas foram retiradas diariamente após o início dos cultivos para contagem de células de transectos em câmara de Neubauer espelhada (3 x 3 mm x 0,1 mm de profundidade), determinando, desse modo, a densidade celular máxima. A contagem de células foi realizada em duplicata com aumento 400x, para que posteriormente, fossem analisados os resultados após o cálculo as médias das contagens e assim representar as curvas de crescimento da espécie *Desmodesmus subspicatus*.

Para cálculo do número total de células por mililitro de amostra, utilizou-se a fórmula descrita na Equação 1 abaixo.

$$\text{Equação (1): } DC = n^{\circ} \text{ total de células} \times n^{\circ} \text{ de quadrantes contados} \times 10^4$$

Após a realização do cultivo foi executada a separação das células suspensas do efluente através da centrifugação do líquido em 2.500 rpm por  $\pm 2$  minutos.

O efluente coletado para o desenvolvimento dos experimento de cultivo de algas foi submetido as seguintes análises laboratoriais: pH, oxigênio dissolvido (mg/L-1), DQO (mg-

O<sub>2</sub>/L<sup>-1</sup>), DBO (mg-O<sub>2</sub>/L<sup>-1</sup>), nitrogênio amoniacal (mg-N-NH<sub>3</sub>/L<sup>-1</sup>), nitrogênio total (NTK) (mg-N/L-1), fósforo total (mg/L-1) utilizando as metodologias do Standard Methods for Examination of Water and Wasterwater (APHA, 2012).

A biomassa recolhida após a centrifugação foi colocada em cápsulas de porcelana e levada a estufa a 100°C durante aproximadamente 6 horas. Após a secagem, foi realizada extração do óleo contido dentro das células das microalgas, através filtração de 100 mL dos cultivos utilizando membranas de fibra de vidro de 1,2 µm. As membranas contendo a biomassa foram colocadas em Erlemeyers de 25 mL contendo 30 mL dos solventes avaliados separadamente. Os Erlemeyers foram tampados com plástico filme e imersos e fixados em equipamento ultrassom por 60 minutos. A extração foi baseada na metodologia descrita por Blight e Dyer (1959), com a realização da extração dos óleos intracelulares por meio de uma mistura composta pelos solventes clorofórmio: metanol, na proporção (2:1 v/v). As membranas foram colocadas em cartuchos de celulose, e os solventes utilizados foram transferidos ao balão do Soxhlet, que receberam mais 150 mL de solvente. A temperatura na chapa aquecedora do equipamento Soxhlet foi mantida em 60°C e o tempo de extração foi de aproximadamente 3 horas, totalizando 35 ciclos de extração para cada membrana. Todas as extrações foram realizadas em triplicata, para cada uma das espécies.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 01 estão apresentados os resultados das medições de: pH, oxigênio dissolvido(mg/L), temperatura(°C) e condutividade(µS/cm) no efluente coletado no ponto pós-decantador secundário e que foi utilizado com meio de cultivo para o crescimento da microalga *Desmodesmus subspicatus*.

**Tabela 01:** Resultados de medições do efluente pós-decantador secundário na ETE Centro, Petrolina, PE.

| <b>Eflue<br/>nte</b>                      | <b>pH</b> | <b>p<br/>(°C)</b> | <b>Temperatura</b> | <b>O<br/>D (mg/L)</b> | <b>S/cm)</b> | <b>Condutividade(µ</b> |
|---|-----------|-------------------|--------------------|-----------------------|--------------|------------------------|
| <b>Pós-<br/>decantador<br/>secundário</b> | ,3        | 7                 | 31,5               | 0,<br>21              |              | 1.189                  |

A tabela 02 apresenta as características do efluente pós-decantador secundário apresentado os resultados das seguintes análises: DBO, DQO, NTK, nitrogênio amoniacal e fósforo total.

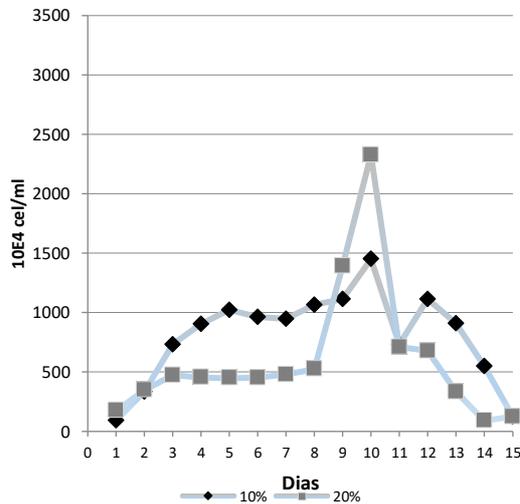
**Tabela 02:** Resultados das análises laboratoriais do efluente pós-decantador secundário na ETE Centro

| <b>Efluente</b>   | <b>D<br/>QO<br/>m<br/>g/L- O<sub>2</sub></b> | <b>D<br/>BO<br/>m<br/>g/L- O<sub>2</sub></b> | <b>NT<br/>K<br/>mg<br/>/L-N</b> | <b>N-<br/>amoniacal<br/>mg/<br/>L-N-NH<sub>3</sub></b> | <b>Fósforo<br/>Total<br/>mg/l</b> |
|---|--|--|---------------------------------|--|-----------------------------------|
| <b>Pós-<br/>decantador<br/>secundário<br/>sem filtração</b> | 12<br>7,7                                    | 58<br>,0                                     | 42,<br>2                        | 33,6   | 14,6                              |
| <b>Pós-<br/>decantador<br/>secundário<br/>com filtração</b> | 12<br>2,8                                    | 55<br>,2                                     | 40,<br>1                        | 32,5   | 14,1                              |

A Figura 02, demonstra a avaliação do crescimento de *Desmodesmus subspicatus*, comparando os inóculos iniciais de 10% e 20% da microalga, utilizando o metabolismo autotrófico (com iluminação 24h) e com efluente filtrado. No cultivo a 10%, a maior concentração foi verificada no 10º dia com  $1,45 \times 10^7$  cel/mL e a partir do dia 11, houve a queda da densidade provavelmente pela interferência da herbivoria, pois foi possível visualizar ao microscópio a presença de organismos predadores. Ocorreu um pico de densidade no 10º dia de cultivo ( $2,33 \times 10^7$  cel/mL) com 20% de inóculo inicial de *Desmodesmus subspicatus*, seguido de uma brusca queda de densidade no dia 11 ( $7,10 \times 10^6$ ). Isso também pode ser explicado, presença de rotíferos e protozoários neste cultivo.

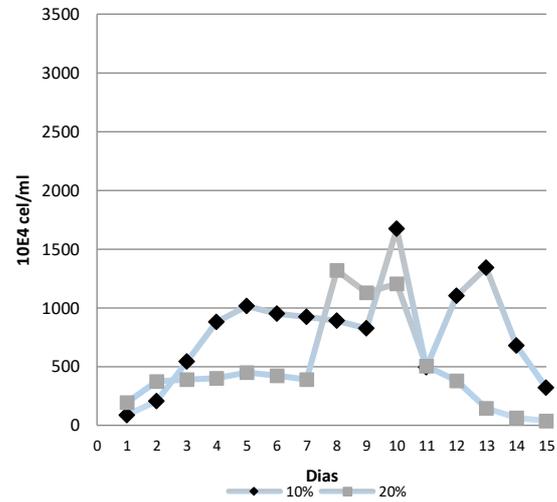
A Figura 03 demonstra a curva de crescimento comparando também a concentração inicial de *Desmodesmus subspicatus* a 10% e 20%, com metabolismo autotrófico (com iluminação por 24 horas), contudo o efluente utilizado era sem filtração. A maior densidade

observada no cultivo com 10% de inóculo inicial no 10º dia de cultivo ( $1,67 \times 10^7$  cel/mL.), conforme demonstrado no gráfico. O cultivo a 20% de inóculo inicial, apresentou maiores densidades no dia 8 ( $1,32 \times 10^7$  cel/mL), dia 9 ( $1,13 \times 10^7$  cel/mL) e dia 10 ( $1,20 \times 10^7$  cel/mL), com uma queda brusca, provavelmente ocasionada pela herbivoria.



**Figura 02:** Curva de crescimento da espécie

*Desmodesmus subspicatus* com metabolismo autotrófico, em efluente com filtração na concentração de 10% e 20% de microalga.



**Figura 03:** Curva de crescimento da espécie

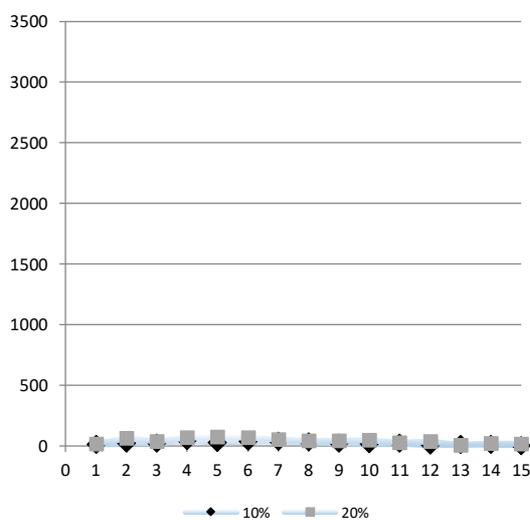
*Desmodesmus subspicatus* com metabolismo autotrófico, em efluente sem filtração na concentração de 10% e 20% de microalga.

Para avaliar a existência de diferenças estatísticas significativas entre cultivo autotrófico com efluente pós-decantador secundário filtrado e não filtrado foi utilizado o teste estatístico Kruskal-Wallis (múltiplas comparações) e teste de Dunn. Com o resultado do teste foi possível concluir que não houve diferença estatística significativa na comparação entre os cultivos autotróficos quando se comparou a variável filtração do efluente, tanto na concentração inicial de microalgas 10% quanto na concentração de 20%.

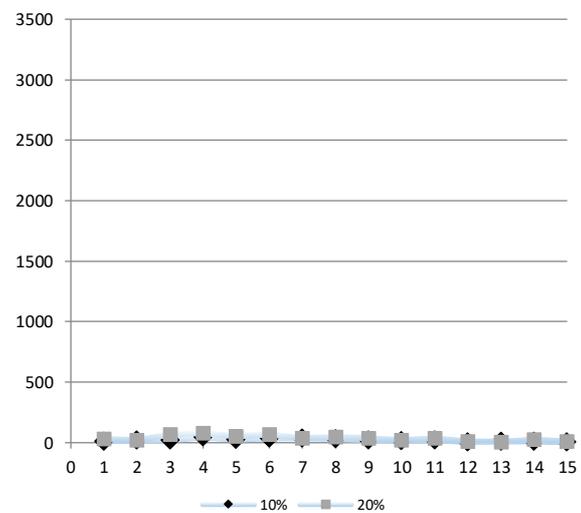
Existem na literatura alguns procedimentos pré-tratamento de águas residuárias antes de entrar em um processo de cultivo microalga que incluem filtração, autoclavagem ou diluição da água, o que pode diminuir o crescimento de microrganismos competitivos e diminuir a turbidez da água, enquanto aumenta a transmitância da luz. Contudo, no experimento realizado e a partir da avaliação das análises estatísticas foi possível concluir que a filtração do efluente não proporcionou diferença significativa no crescimento microalgas, nem teve êxito na diminuição do crescimento de organismos competitivos já que foi perceptível a predação das microalgas e a redução na densidade de *Desmodesmus subspicatus*.

Diante dos resultados, é possível concluir que a filtração não foi eficiente para remoção de microrganismos predadores, já que foi possível verificar a presença de rotíferos e protozoários durante a realização das contagens de microalgas no microscópio e uma drástica redução da densidade celular a partir do 11º, quando foi possível verificar ao microscópio a presença de vários predadores. A filtração para redução dos sólidos em suspensão e aumento da transmitância da luz também não trouxe benefícios para o aumento do crescimento celular.

Nas Figuras 04 e 05 foram avaliados os cultivos de *Desmodesmus subspicatus*, com concentração inicial de 10% e 20%, utilizando o metabolismo heterotrófico (sem iluminação), em efluente com e sem filtração, respectivamente. Conforme demonstrado nas figuras abaixo, a densidade foi bem inferior quando comparado ao cultivo autotrófico. Provavelmente, esse fraco desempenho possa ser explicado pela falta de uma fonte de carbono orgânico, que não foi suprida pelas fontes presentes no efluente doméstico pós-decantador secundário. Contudo, não se pode descartar o cultivo heterotrófico apenas com esse resultado, já que outros tipos de efluentes e concentrações podem ser testados para que uma avaliação mais completa possa ser desenvolvida.



**Figura 04:** Curva de crescimento da espécie *Desmodesmus subspicatus* com metabolismo autotrófico, em efluente com filtração na concentração de 10% e 20% de microalga.



**Figura 05:** Curva de crescimento da espécie *Desmodesmus subspicatus* com metabolismo heterotrófico, em efluente sem filtração na concentração de 10% e 20% de microalga.

Também foram aplicados os testes estatísticos de Kruskal-Wallis (múltiplas comparações) e Teste Dunn para avaliar se existiam diferenças estatísticas significativas entre o cultivo de *Desmodesmus subspicatus* no metabolismo heterotrófico, utilizando efluente pós-decantador secundário filtrado e não filtrado. Os resultados dos testes também apontaram que a filtração do efluente não influenciou na concentração celular.

Foi avaliada a diferença estatística entre os metabolismos autotrófico e heterotrófico através de Kruskal-Wallis (múltiplas comparações), considerando as concentrações iniciais de 10% e 20%. Os resultados apontaram que houve diferença estatística entre os metabolismos avaliados, tanto no cultivo inicial de 10% quanto no cultivo com concentração de 20%. Desta forma, é possível concluir que o cultivo autotrófico foi mais eficiente, pois apresentou uma maior densidade, quando comparado ao cultivo heterotrófico.

Após o experimento, as amostras contidas nos reatores foram centrifugadas para separação da biomassa de algas do efluente e assim foram realizadas as análises físico-químicas para avaliar remoção de nutrientes e matéria orgânica.

Seguem abaixo nas Tabelas 03 e 04, os resultados para o cultivo autotrófico com concentração inicial de 10% e 20% e efluente com e sem filtração dos cultivos autotrófico e heterotrófico, respectivamente.

**Tabela 03:** Resultados de análises físico-químicas do efluente pós-cultivo autotrófico com inóculo inicial de 10% e 20% e efluente com e sem filtração.

| EFLUENTE PÓS CULTIVO AUTOTRÓFICO |                          |                                       |                          |                                       |  |  |                                       |                             |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--|--|---------------------------------------|-----------------------------|
|                                  | DQO<br>mg/L <sup>1</sup> | Eficiência<br>de<br>Remoção<br>de DQO | NTK<br>mg/L <sup>1</sup> | Eficiência<br>de<br>Remoção<br>De NTK | N<br>NH <sub>4</sub> <sup>+</sup><br>mg/L <sup>1</sup> | Eficiência<br>de<br>Remoção<br>de N-<br>NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | Fósforo<br>total<br>mg/L <sup>1</sup> | Eficiência<br>de<br>Remoção |
| <b>10%<br/>com<br/>filtração</b> | 41,7                     | 66,0%                                 | 6,4                      | 84,0%                                 | 1,34   | 98,9%  | 4,2                                   | 70,0%                       |
| <b>10%<br/>sem<br/>filtração</b> | 38,5                     | 69,8%                                 | 5,9                      | 86,0%                                 | 1,10   | 96,7%  | 4,6                                   | 68,5%                       |
| <b>20%<br/>com<br/>filtração</b> | 45,8                     | 62,7%                                 | 7,4                      | 81,6%                                 | 2,1  | 93,5%  | 5,3                                   | 62,2%                       |

|                         |      |       |     |       |      |       |     |       |
|-------------------------|------|-------|-----|-------|------|-------|-----|-------|
| 20%<br>sem<br>filtração | 44,3 | 65,3% | 6,9 | 83,5% | 1,78 | 94,7% | 5,5 | 62,3% |
|-------------------------|------|-------|-----|-------|------|-------|-----|-------|

**Tabela 04:** Resultados de análises físico-químicas do efluente pós-cultivo heterotrófico com concentração inicial de 10% e 20% e efluente com e sem filtração.

|                             | EFLUENTE HETEROTRÓFICO  |  |                         |   | PÓS CULTIVO                    |  | Efi<br>ciência de<br>Remoção |   |
|-----------------------------|-------------------------|--|-------------------------|---|--------------------------------|--|------------------------------|---|
|                             | QO<br>g/L <sup>-1</sup> | E<br>ficiência<br>de<br>Remoção<br>de<br>DQO | TK<br>g/L <sup>-1</sup> | E<br>ficiência<br>de<br>Remoção<br>de<br>D<br>e NTK | N<br>NH4+<br>g/L <sup>-1</sup> | E<br>ficiência<br>de<br>Remoção<br>de N-<br>NH4+ |                              | F<br>ósforo<br>total<br>g/L <sup>-1</sup> |
| <b>0% com<br/>filtração</b> | 1<br>5,3                | 6<br>3%                                      | 6<br>5,1                | 6<br>4%   | 1<br>0,5                       | 6<br>4%  | 7<br>%<br>,80                | 44  |
| <b>0% sem<br/>filtração</b> | 1<br>4,6                | 6<br>5%                                      | 6<br>0,0                | 5<br>8%   | 14,3                           | 8%   | 8<br>%<br>,00                | 45  |
| <b>0% com<br/>filtração</b> | 2<br>7,9                | 6<br>1%                                      | 6<br>6,7                | 6<br>2%   | 17,3                           | 2%   | 7<br>%<br>,90                | 44  |
| <b>0% sem<br/>filtração</b> | 2<br>7,3                | 6<br>3%                                      | 6<br>9,5                | 5<br>9%   | 19,8                           | 9%   | 8<br>%<br>,50                | 42  |

A partir da avaliação dos resultados de eficiência de remoção de DQO, NTK, nitrogênio amoniacal e fósforo total pôde-se perceber que foram mais elevadas no cultivo autotrófico, quando comparado ao cultivo heterotrófico, para todos os parâmetros. Destaca-se a eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal do cultivo autotrófico que foram entre 94% e 99%, e apesar de não ter ocorrido uma densidade celular bem inferior quando comparado ao cultivo autotrófico, houve remoção de nitrogênio amoniacal, apresentando uma eficiência entre 58% e 64%. De acordo com Perez-Garcia (2011b), a amônia é a fonte de nitrogênio preferida das microalgas, e também a fonte energeticamente mais eficiente, já que menos

energia é necessária para sua absorção. Segundo o autor, condições de crescimento heterotrófico não afetam as taxas de absorção de amônia e a expressão das enzimas de assimilação de nitrogênio, e tanto sob condições autotróficas ou heterotróficas, a amônia é transportada através das membranas por um grupo de proteínas pertencentes à família transportadoras de amônia (WILHELM et al., 2006).

Também houve uma remoção satisfatória de fósforo total, principalmente no cultivo autotrófico. De acordo com Singh e Thomas (2012) essa remoção de fosfato por microalgas é uma tecnologia iminente para diminuir consideravelmente este poluente, um dos causadores de eutrofização. Desta forma, diversos sistemas vêm sendo apresentados levando em consideração o metabolismo destes microrganismos tanto em lagoas de alta taxa, lagoas de rolamento, como em fotobiorreatores.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados do conteúdo e percentual de óleo dos cultivos de *D. subspicatus* com metabolismos autotrófico, heterotrófico e mixotrófico que foram analisados após o término do experimento. Os resultados demonstraram que o cultivo mixotrófico apresentou valores mais elevados de produção em comparação com os outros metabolismos e os percentuais foram mais elevados nos cultivos com 20% de concentração inicial.

**Tabela 1** - Conteúdo e percentual de óleo de *D. subspicatus* concentrações iniciais de 10% e 20%, metabolismo autotrófico, heterotrófico e mixotrófico e efluente pós-DS.

|                      | Conteúdo de óleo<br>(g/g <sup>-1</sup> ) | Percentual de óleo<br>(%) |
|----------------------|--|---------------------------|
| <b>Autotrófico</b>   |  |                           |
| 10% com filtração    | 0,17                                     | 17%                       |
| 10% sem filtração    | 0,19                                     | 19%                       |
| 20% com filtração    | 0,23                                     | 23%                       |
| 20% sem filtração    | 0,27                                     | 25%                       |
| <b>Heterotrófico</b> |  |                           |
| 10% com filtração    | 0,06                                     | 6%                        |
| 10% sem filtração    | 0,07                                     | 7%                        |
| 20% com filtração    | 0,09                                     | 9%                        |
| 20% sem filtração    | 0,09                                     | 9%                        |

Correlacionado os resultados de conteúdo e percentual de óleo com o comportamento da curva de crescimento dos experimentos, é possível inferir que os valores mais altos de percentual de óleo foram observados no cultivo autotrófico quando comparados ao cultivo

heterotrófico, e o efluente com 20% de concentração inicial também apresentou um maior percentual. Esses resultados podem estar relacionados com a falta da fonte de carbono orgânica no cultivo heterotrófico e que não foi suprida pelas fontes presentes no efluente utilizado no cultivo, gerando assim um menor acúmulo de óleo nas células da microalga.

#### **4. CONCLUSÕES**

Na comparação dos resultados utilizando o teste estatístico de Kruskal-Wallis e Teste Dunn entre os cultivos com metabolismo autotrófico e heterotrófico, efluente com e sem filtração e os inóculos iniciais de microalga de 10% e 20%, foi possível concluir que os mais altos valores de densidade celular foram obtidos no cultivo autotrófico, quando comparado ao heterotrófico e houve diferença estatística para essa variável. Foi possível concluir também que não houve diferença estatística significativa na comparação entre os cultivos autotróficos considerando a variável filtração do efluente, tanto utilizando o inóculo inicial de microalgas de 10%, quanto de 20%.

Em relação a remoção de DQO, NTK, nitrogênio amoniacal e fósforo total foram encontradas eficiências elevadas, principalmente nos cultivos que utilizaram o metabolismo autotrófico, estando provavelmente relacionado com a maior densidade celular encontrada nesses cultivos e conseqüentemente maior consumo dos nutrientes e matéria orgânica pela espécie de microalga cultivada, sendo assim, é possível a utilização desta espécie para tratamento terciário de efluentes em sistemas abertos, fechados ou híbridos.

Em relação ao acúmulo de lipídios nas células das microalgas, o metabolismo autotrófico também apresentou maiores percentuais quando comparado ao cultivo com metabolismo heterotrófico e o inóculo inicial de 20% foi superior ao inóculo inicial de 10%.

#### **REFERÊNCIAS**

- ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J.A. Long term outdoor operation of tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecological Engineering*. v.52, p.143-153, 2013.
- BUMBAK, Fabian et al. Best practices in heterotrophic high-cell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, [s.l.], v. 91, n. 1, p.31-46, 2011.

CAI, T.; STEPHEN, X. PARK. Y. Comparison of *Synechocystis* sp. PCC6803 and *Nannochloropsis salina* for lipid production using artificial seawater and nutrients from anaerobic digestion effluente Bioresource Technology. v. 144, p 255-260, 2013...

GOUVEIA, L. Microalgae as a Feedstock for Biofuels Microalgae as a Feedstock for Biofuels (pp. 1-69): Springer. 2011

MENDOZA, JL et al. Transferência de oxigênio e evolução na cultura de microalgas em pistas abertas. Bioresource Technology , v. 137, p. 188-195, 2013.

PEREZ-GARCIA, O. et al. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.11-36, jan. 2011b.

PROVASOLI, L., MCLAUGHLIN, J. J. & DROOP, M. R. CERNIGLIA, C.E. & GIBSON, D. T. (1977). Metabol- (1957). The development of artificial media for ism of naphthalene by *Cunninghamella elegans*. marine algae. Archiv fur Mikrobiologie 25, 392- Applied and Environmental Microbiology 34, 363- 428