

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

THAIS AGDA RODRIGUES DA CRUZ PRIMO

**O CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* COMO ALTERNATIVA PARA
A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE TERMO
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO**

LAGES

2022

THAIS AGDA RODRIGUES DA CRUZ PRIMO

**O CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* COMO ALTERNATIVA PARA
A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE TERMO
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de mestre em Ciências
Ambientais pelo Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais do Centro de Ciências
Agroveterinárias – CAV, da Universidade do
Estado de Santa Catarina – UDESC
Orientador: Prof. Dr. Everton Skoronski
Coorientadora: Prof. Dr. Fábio de Farias Neves

LAGES

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca
Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Primo , Thais Agda Rodrigues da Cruz
O CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella
kessleri* COMO ALTERNATIVA PARA A REMOÇÃO
DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE
TERMO PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO
/ Thais Agda Rodrigues da Cruz Primo . – 2022.
81 p.

Orientador: Everton Skoronski
Coorientador: Fábio FariasNeves
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais,
Lages,2022.

1. Fitorremediação. 2. Efluente de processamento de
frango. 3. *Parachlorella kessleri*. 4. Microalga. I.
Skoronski , Everton . II. Farias Neves, Fábio . III.
Universidade do Estadode Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais. IV.

THAIS AGDA RODRIGUES DA CRUZ PRIMO

**O CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* COMO ALTERNATIVA PARA
A REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE TERMO
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de mestre em Ciências
Ambientais pelo Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais do Centro de Ciências
Agroveterinárias – CAV, da Universidade do
Estado de Santa Catarina – UDESC

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Everton Skoronski

UDESC, Lages, SC

Membros:

Prof. Dra. Viviane Trevisan

UDESC, Lages, SC

Prof. Dra. Rosana de Cassia de Souza Schneider
UNISC, Santa Cruz do Sul, RS

Lages, 22 de novembro de 2022.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre me guiar e iluminar meu caminho todos os dias, por me conceder toda fé e força que tenho, por me fazer acreditar o quanto sou capaz de realizar meus sonhos. Por sempre ter me abençoado.

Aos meus pais, Antonio e Selma, por serem meu maior exemplo de caráter, humildade e força. Por sempre me apoiarem em meus estudos e por incentivarem a nunca desistir de buscar meus sonhos, por sempre estarem do meu lado e por torcerem tanto por mim. Principalmente à minha mãe, por me acalmar sempre quando precisei. Dedico este trabalho a vocês.

À Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, por me conceder um ensino de qualidade com uma boa infraestrutura para realização do trabalho, pelo excelente corpo docente e pela concessão da bolsa de estudos. À FAPESC (termo de outorga 2021TR1223) e ao CISAMA/FIEPE/CAV pelo apoio financeiro para a realização deste projeto de pesquisa. Ao meu professor e orientador, Everton Skoronski, por todos os ensinamentos durante estes anos, pela grande amizade, por toda orientação de forma impecável e por ser um exemplo de ser humano e profissional. Ao meu coorientador, Fábio Neves, por fazer da minha jornada acadêmica desde a graduação e por ter contribuído com todos os seus ensinamentos e apoio durante a execução do trabalho.

À equipe do Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos – Labtrat pela disposição em me ajudar sempre que necessitei. Ao Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas por me fornecer a espécie utilizada e ao Laboratório de Ecotoxicologia de Solos pela ajuda na realização de análises. A indústria de processamento de frango pela concessão do efluente.

Agradeço imensamente a todos.

Aos amigos que fiz no Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos e mestrado, por todo conselho, ajuda na execução do trabalho, pelas risadas, felicidades e todos os bons momentos compartilhados. Em especial às amigas, Júlia, Luana, Mariana, Paula, Rafaela e Taciana. Agradeço imensamente a vocês por tudo. À minha noiva, Ana Paula, por estar do meu lado e ser minha companheira de vida, por todo amor, apoio, ajuda e felicidade compartilhada, principalmente nas conquistas realizadas. Obrigada por fazer parte da minha vida.

RESUMO

O efluente gerado em indústria de processamento de frango está entre os mais poluentes, devido à sua alta carga orgânica e presença de nutrientes em elevada concentração, como o nitrogênio. Embora existam diversos trabalhos explorando a remoção de nitrogênio em matrizes aquosas, este tema ainda é um desafio sob o prisma de tratamento de água e efluentes. Neste sentido, a utilização de microalgas como agentes remediadoras de efluentes apresenta-se como uma tecnologia alternativa atraente. Estes microrganismos assimilam nitrogênio, que é uma fonte de nutriente primordial para o seu desenvolvimento, e conseqüentemente, o remove de forma eficiente. O presente estudo teve como objetivo avaliar a utilização da espécie de microalga, *Parachlorella kessleri*, para remoção de nitrogênio proveniente do efluente gerado por indústria de processamento de frango. A estrutura da dissertação foi organizada em 2 etapas em função dos ensaios realizados neste trabalho. A primeira etapa envolveu a execução de 3 ensaios experimentais, sendo o primeiro experimento para definição do ponto de coleta (efluente pós-prensa-EPP ou efluente do decantador – ED). Foi ainda cultivado *P. kessleri* em 3 tratamentos variando o volume de inóculo. Em seguida foi realizado o cultivo da microalga no efluente do ponto selecionado anteriormente e foram conduzidos 4 tratamentos com diferentes volumes de inóculo, e por fim, realizou-se o terceiro experimento através de um ensaio cinético para avaliar o tempo de contato em função da remoção de nitrogênio. Os resultados demonstraram que a microalga *Parachlorella kessleri* obteve uma melhor adaptação ao efluente do decantador – ED e foi capaz de remover 95% de nitrogênio em 9 dias do efluente estudado. Na segunda etapa foi avaliada a composição da biomassa gerada, sendo determinado o teor de proteína, matéria orgânica e teor de cinzas por análise termogravimétrica (TGA), metais e minerais por ICP-EP, e quantificação das enzimas lipase, protease alcalina total e α -amilase. A microalga estudada apresentou 29% de proteína, 9 a 13% de cinzas, 42 a 52% de composição orgânica na biomassa. Ainda, para os metais (Cu, Cd, Pb, Cr, Mo, Ni, Fe, Mn, P e Al) a microalga removeu de 10 a 100% da concentração inicial para a final, e os minerais Ca, Na e K obtiveram bioacumulação de 34%, 158% e 97%. Foi identificada a presença das enzimas Lipase e Protease alcalina total. *P. kessleri* apresentou um ótimo desempenho para remoção de nitrogênio no efluente estudado e foi descoberto potencial aplicação da biomassa como biofertilizante e fonte enzimática.

Palavras-chave: Fitorremediação; Efluente de processamento de frango; *Parachlorella kessleri*; Microalga; Biomassa.

ABSTRACT

The effluent generated in the chicken processing industry is among the most polluting, due to its high organic load and the presence of nutrients in high concentration, such as nitrogen. Thus, although there are several studies exploring nitrogen removal in aqueous matrices, this theme is still a challenge under the ready-to-see treatment of water and effluents. In this sense, the use of microalgae as effluent remediating agents is an attractive alternative technology. These microorganisms assimilate nitrogen, which is a primary nutrient source for its development, and consequently removes it efficiently. The present study aimed to assess the viability of using the microalga *Parachlorella kessleri* for to remove nitrogen from the effluent generated by the chicken meat thermal processing industry. The structure of the dissertation was organized in 2 stages according to the assays performed in this study. The first stage involved the execution of 3 experimental assays, being the first experiment to define the collection point (post-press-EPP effluent or decanter effluent - ED). *P. kessleri* was also cultivated in 3 treatments varying the volume of inoculum. Next, the microalgae was cultivated in the effluent of the previously selected point and 4 treatments with different volumes of inoculum were conducted, and finally, the third experiment was carried out through a kinetic assay to evaluate the contact time as a function of nitrogen removal. The results showed that the microalgae *Parachlorella kessleri* obtained a better adaptation to the effluent of the decanter - ED and was able to remove 95% nitrogen in 9 days of the studied effluent. In the second stage, the composition of the biomass generated was evaluated, being determined the protein content, organic matter and ash content by thermogravimetric analysis (TGA), metals and minerals by ICP-EP, and quantification of enzymes lipase, total alkaline protease and α -amylase. The microalgae studied presented 29% of protein, 9 to 13% ash, 42 to 52% of organic composition in biomass. Furthermore, for metals (Cu, Cd, Pb, Cr, Mo, Ni, Fe, Mn, P and Al) the microalgae removed from 10 to 100% of the initial concentration to the final, and the minerals Ca, Na and K obtained bioaccumulation of 34%, 158% and 97%. The presence of enzymes lipase and total alkaline protease was identified. *P. kessleri* presented an excellent performance for nitrogen removal in the studied effluent and potential application of biomass as biofertilizer and enzymatic source was discovered.

Key-words: Fitorremediation; Chicken processing effluent; *Parachlorella kessleri*; Microalga; Biomass.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma da estruturação das etapas 1 e 2.....	16
Figura 2 - Fluxograma da ETE da indústria de termo processamento de carne de frango e pontos de coleta.....	20
Figura 3 - Sistema de cultivo implementado para <i>P. kessleri</i>	22
Figura 4 - Variação da densidade celular (cél. mL ⁻¹) em cada tratamento (T5 – 5 mL, T10 – 10 mL e T20 - 20 mL) referente ao cultivo no efluente decantador (ED) e pós-prensa (EPP) ao longo dos dias de cultivo	27
Figura 5 - Efluente dos pontos de coleta. a) efluente pós-prensa (EPP) e efluente do decantador (ED).	29
Figura 6 – Concentração inicial e final de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) durante o cultivo e eficiência de remoção pela espécie <i>Parachlorella kessleri</i> nos tratamentos T5, T10 e T20 no efluente do decantador (ED).	30
Figura 7 - Sistema de cultivo com a microalga <i>P. kessleri</i>	31
Figura 8 - Variação da densidade celular (cél.mL ⁻¹) em cada tratamento (T30, T45, T60 e T80) referente ao cultivo no efluente do decantador (ED) ao longo dos dias de cultivo.....	32
Figura 9 – Concentração inicial e final de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) durante o cultivo no efluente do decantador (ED) e eficiência de remoção pela espécie <i>Parachlorella kessleri</i> nos tratamentos T30, T45, T60 e T80.	35
Figura 10 - Sistema em batelada para o cultivo da <i>P. kessleri</i>	38
Figura 11 - Variação da densidade celular (cél. mL ⁻¹) do cultivo da espécie <i>Parachlorella kessleri</i> cultivada no efluente do decantador (ED) ao longo dos dias durante os 3 ciclos.	39
Figura 12 - Variação dos parâmetros de pH, temperatura e oxigênio dissolvido durante o cultivo da espécie <i>Parachlorella kessleri</i> nos 3 ciclos, onde o ciclo 1 contempla 208h, o ciclo 2 – 72h e o ciclo 3 – 48h.....	40
Figura 13 - Variação das formas nitrogenadas (NTK e N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻) durante o cultivo da espécie <i>Parachlorella kessleri</i> , onde 1 representa o primeiro ciclo com 208h, 2 o segundo ciclo com 72h e 3 o terceiro ciclo com 48h.....	42
Figura 14 - Quantificação do teor de proteína inicial e final referente ao ensaio experimental	53
Figura 15 - Análise termogravimétrica para a biomassa obtida do inóculo de <i>P. kessleri</i> referente a amostra inicial.....	54

Figura 16 - Análise termogravimétrica para a biomassa obtida dos quatro tratamentos, onde A – T30, B – T45, C – T60, D – T80, de *P. kessleri* referente ao final do tratamento. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Metodologias usadas para caracterização do efluente de termo processamento de carne de frango	21
Tabela 2 - Tempo de reação para cada ciclo experimental.....	24
Tabela 3 - Caracterização do efluente da indústria de processamento de frango durante o período de julho de 2021 à fevereiro de 2022 para o Efluente Pós-prensa (EPP) e o Efluente do Decantador (ED).....	26
Tabela 4 - Crescimento específico, tempo de duplicação e produtividade de biomassa da microalga <i>Parachlorella kessleri</i> em quatro volumes de inóculo (T30 – 30 mL, T45 – 45 mL, T60 – 60 mL e T80 – 80 mL) cultivadas no efluente do decantador (ED) de processamento de frango.....	33
Tabela 5 - Concentração de nitrito (N-NO ₂ ⁻) e nitrato (N-NO ₃ ⁻) durante o cultivo da <i>P. kessleri</i> nos quatro tratamentos (T30, T45, T60 e T80) no intervalo de tempo inicial, intermediário e final.....	35
Tabela 6 - Análise de nutrientes e da produtividade de biomassa.....	51
Tabela 7 - Estágios de degradação da biomassa da <i>P. kessleri</i>	56
Tabela 8 - Análise de metais pesados e minerais obtidos da biomassa do inóculo e dos quatro tratamentos (T30, T45, T60 e T80) de <i>P. kessleri</i> referente ao final do tratamento.	58
Tabela 9 - Determinação qualitativa para atividade enzimática de lipase, protease e α -amilase das enzimas intracelular e extracelular de <i>P. kessleri</i>	59

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	<i>Analysis of variance</i> (Análise de variância)
AOAC	<i>Association of Official Agricultural Chemists</i> (Associação de Químicos Agrícolas Oficiais)
APHA	<i>American Public Health Association</i> (Associação Americana de Saúde Pública)
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
TGA	<i>Thermogravimetric Analysis</i> (Análise termogravimétrica)
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVO ESPECÍFICOS	15
3	ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	16
4	ETAPA 1: REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE PROCESSAMENTO DE FRANGO COM O USO DA MICROALGA <i>PARACHLORELLA KESSLERI</i>	17
4.1	RESUMO	17
4.2	INTRODUÇÃO.....	17
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.3.1	Coleta e caracterização do efluente de termo processamento de carne de frango	19
4.3.2	Organismo e condições de cultivo	21
4.3.3	Delineamento experimental	22
4.3.4	Definição do ponto de coleta: ensaio preliminar	22
4.3.5	Otimização do crescimento da microalga no efluente	23
4.3.6	Ensaio cinético	23
4.3.7	Determinação de parâmetros de crescimento	24
4.3.8	Remoção de nutrientes	25
4.3.9	Análise estatística	25
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.4.1	Característica do efluente de processamento de frango	25
4.4.2	Ensaio preliminar: comparação entre dois pontos de coleta	27
4.4.2.1	<i>Remoção de nutrientes: nitrogênio e fósforo</i>	30
4.4.3	Otimização da microalga <i>P. kessleri</i> no efluente	31
4.4.3.1	<i>Remoção de nutrientes</i>	34
4.4.4	Ensaio Cinético	38
4.4.4.1	<i>Monitoramento de parâmetros físico-químicos</i>	40
4.4.4.2	<i>Remoção de nitrogênio e fósforo</i>	42
4.5	CONCLUSÃO.....	45

5	ETAPA 2: CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA RESIDUAL GERADA PELO TRATAMENTO DE EFLUENTE DE TERMO PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO COM A MICROALGA <i>PARACHLORELLA KESSLERI</i>	45
5.1	RESUMO	45
5.2	INTRODUÇÃO.....	46
5.3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.3.1	Condições de cultivo da microalga no efluente	47
5.3.2	Obtenção da biomassa residual pelo tratamento do efluente de processamento de frango	48
5.3.3	Determinação de Proteína	49
5.3.4	Análise termogravimétrica	49
5.3.5	Análise de metais	49
5.3.6	Análise enzimática	50
5.3.7	Análise estatística	51
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.4.1	Obtenção e composição da biomassa residual	51
5.4.2	Proteína	52
5.4.3	Análise termogravimétrica	54
5.4.4	Análise de metais	57
5.4.5	Análise enzimática	59
5.5	CONCLUSÃO.....	61
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS	61
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO GERAL

A contaminação da água subterrânea e superficial com nitrogênio é um problema ambiental recorrente, causando tanto danos ao meio ambiente quanto à saúde humana. Existem várias fontes de nitrogênio que constituem-se como um aspecto ambiental, envolvendo desde a combustão de combustíveis fósseis até o tratamento e descarte de águas residuais, incluindo efluentes de origem industrial e doméstico (KANTER, 2018). O nitrogênio é um dos elementos mais abundante na atmosfera e está presente de diversas formas na biosfera, seja na forma orgânica e inorgânica (CHEN; WANG, 2020). Em águas residuais, são encontrados o nitrogênio inorgânico, na forma de amônia, nitrito e nitrato e o nitrogênio orgânico, na forma de ureia, proteína e aminoácidos.

Atualmente os principais processos de tratamento de resíduos gerados por estas indústrias são os métodos convencionais, sendo constituído pelo emprego do processo físico-químico e biológico, como lodo ativado, lagoas de estabilização e reatores anaeróbios e aeróbios (BAKER et al., 2021; BAYAR et al., 2011; DAVARNEJAD; NASIRI, 2017). O desempenho desses processos convencionais é eficiente para remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, contudo, a desvantagem desses métodos está na necessidade de grandes volumes de reator, longos tempos de retenção hidráulica e máximo controle para não obter perda de lodo (POTRICH et al., 2020).

Assim, para otimizar os métodos convencionais de tratamentos, se faz necessário a implementação de processos de tratamentos avançados, que são o processo oxidativo avançado (POA), cavitação hidrodinâmica, eletrocoagulação, processos biológicos e nanotecnologia (nano bolhas e nano materiais), contudo, são processos complexos e de alto custo operacional (ALMOMANI; ÖRMECI, 2016).

Os efluentes são gerados e descartados em grandes quantidades diariamente, seja doméstico ou de atividades industriais e/ou agrícolas. Particularmente, os efluentes de origem industrial, principalmente as do setor alimentício, como a indústria de produção de carne de aves, obteve um crescimento expressivo nos últimos anos. Isto ocorreu em consequência ao rápido aumento populacional e demanda de alimentos, que levou a um aumento na quantidade de resíduos gerados (FAO, 2022; SARAYU; SANDHYA, 2012). No Brasil, a produção de aves possui grande relevância por ser responsável por parte do desenvolvimento econômico no país, e o estado de Santa Catarina se destaca como o segundo maior produtor (ABPA, 2020; EPAGRI/CEPA, 2021).

O efluente gerado na indústria avícola são provenientes da água utilizada para limpeza nos abatedouros e do setor de processamento das aves. Este efluente é característico por conter alta quantidade de compostos orgânicos, sólidos em suspensão, nitrogênio e fósforo (BAKER et al., 2021; TERÁN HILARES et al., 2021a). Em específico, a concentração do nitrogênio pode variar de 50 a 300 mg. L⁻¹ dependendo da origem do efluente avícola (CUI et al., 2020; DEL NERY et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019; TERÁN HILARES et al., 2021b).

Diante deste cenário, uma alternativa de potencial e uma tecnologia promissora é a utilização de microalgas para tratamento de efluentes, principalmente, para maximizar a produção de biomassa e aproveitar este subproduto economicamente. O cultivo de microalgas para o tratamento convencional de efluente é um método que é conhecido e aplicado desde 1960. O sistema consiste na integração alga-bactérias cultivadas em lagoas rasas, facultativas ou raceways, sendo denominado como sistema de alta taxa (LOURENÇO, 2006; SOLIMENO et al., 2017).

As microalgas apresentam vantagens como capacidade de assimilação de carbono inorgânico, assim como, nitrogênio e fósforo que são fontes de nutrientes essenciais para o seu rápido crescimento (ALMOMANI et al., 2019; MOHSENPOUR et al., 2021). Conforme já relatado em publicações científicas, microalgas do gênero *Chlorella* sp. possuem uma facilidade adaptativa de crescimento em águas residuais e foram capazes de remover mais de 95% de nitrogênio de efluentes com diferentes origens, tais como, municipal, abatedouro de produtos de origem animal (frango, bovino e suíno) e de lixiviado da excreta de frango (AKETO et al., 2020; CUI et al., 2020; KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; SOROOSH; OTTERPOHL; HANELT, 2022; TERÁN HILARES et al., 2021b; WANG et al., 2021).

Além da tecnologia de tratamento à base de microalgas ser capaz de recuperar os nutrientes, esta contém outros benefícios como, fixação de CO₂ e produção de biomassa. Essa biomassa tem potencial para se tornar um subproduto rentável e para aplicação como biocombustível, biocarvão, pigmentos, bioplásticos e biofertilizantes (BHATT et al., 2022b). Em geral, as espécies mais utilizadas para tratamento de águas residuais são as do gênero *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. e *Chlamydomonas* sp., podendo ser cultivada em efluente bovino, suíno, municipal, avícola e laticínios (GUPTA; PAWAR; PANDEY, 2019).

A espécie de microalga *Parachlorella kessleri* já foi relatada em algumas pesquisas com intuito da sua aplicação para tratamento de efluentes e avaliação dos compostos gerados. Por exemplo, Noguchi et al. (2021) cultivaram em consórcio as espécies *Chlorella vulgaris*, *Graesiella emersonii* e *Parachlorella kessleri* para tratamento do efluente de esgoto doméstico

tratado e produção de amido. Qu et al. (2019) relataram o cultivo da *Parachlorella kessleri* para tratamento do efluente de suinocultura e produção de carboidrato. Ainda, Aketo et al. (2020) cultivaram as cepas das microalgas *Tetraselmis* sp., *Chlorella saccharophila* e *Parachlorella kessleri* para tratamento do efluente de esgoto doméstico e produção de lipídeos. Apesar da microalga *P. kessleri* ser relatada em diversos estudos, estes mostram que sua utilização acontece em consórcio com outras espécies e não de forma isolada, ainda, é notável a maior aplicação para efluente de esgoto doméstico seguido de efluente de suinocultura e de bovinocultura.

Além disso, nos estudos citados é avaliado os compostos gerados após o processo de tratamento de efluentes. A biomassa obtida pela microalga é considerada um subproduto que pode ter grande potencial aplicação no mercado, como, em biocombustíveis, aditivos para nutrição animal e na obtenção de enzimas (BHATT et al., 2022b; RIZWAN et al., 2018). Neste contexto, a novidade deste estudo é na aplicação da espécie *P. kessleri* em efluente de termo processamento de carne de frango para remoção de nitrogênio e avaliação dos compostos gerados a partir da biomassa após o tratamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho foi estudar a viabilidade de utilização da espécie da microalga *Parachlorella kessleri* para remoção de nitrogênio do efluente da indústria de termo processamento de carne de frango e identificar os compostos gerados a partir da biomassa residual e as enzimas presentes na célula da microalga e no meio de cultivo.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

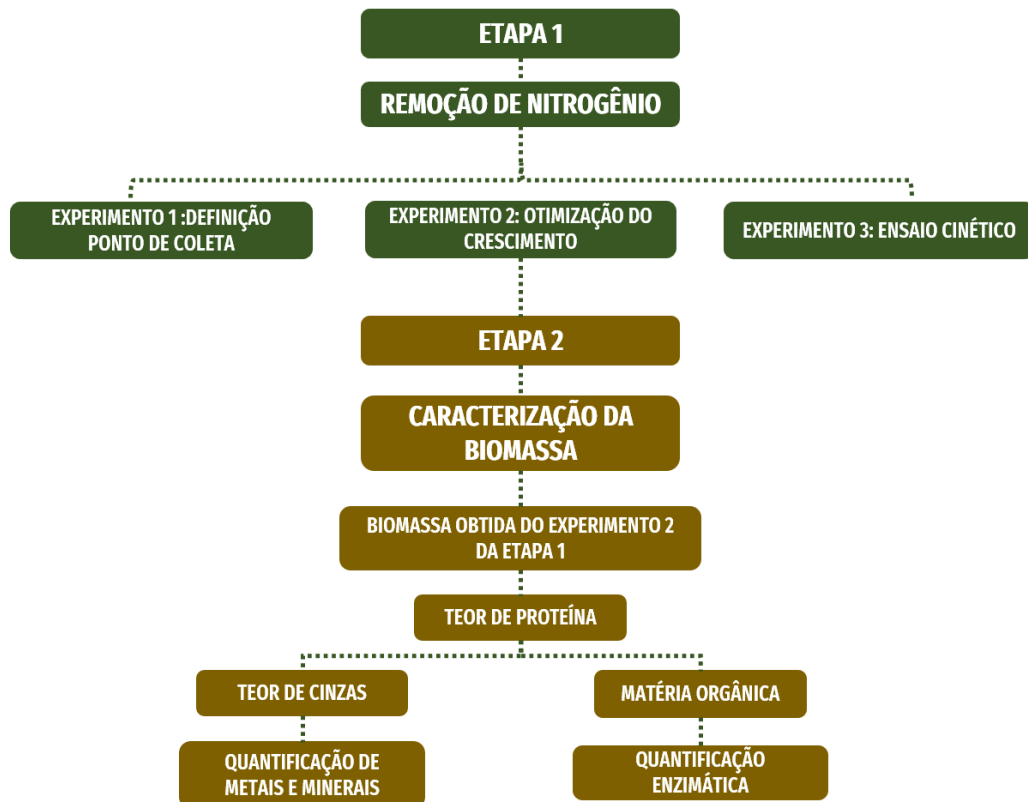
- Caracterizar do efluente da indústria de processamento de frango para definir as condições de cultivo da microalga;
- cultivar a microalga *Parachlorella kessleri* no efluente da indústria de termo processamento de frango e avaliar a remoção de nitrogênio e outros nutrientes como matéria orgânica e fósforo;

- realizar a caracterização da biomassa de *Parachlorella kessleri* para avaliar seu potencial de utilização como subproduto;
- realizar a caracterização das enzimas envolvidas no cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* durante o tratamento do efluente para preliminarmente avaliar o seu potencial como fonte de enzimas.

3 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Além da introdução geral e dos objetivos apresentados anteriormente, esta dissertação foi organizada em duas etapas constituída por ensaios experimentais e caracterização da biomassa gerada, conforme ilustra a Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma da estruturação das etapas 1 e 2.



Elaborado pela autora (2022)

4 ETAPA 1: REMOÇÃO DE NITROGÊNIO DE EFLUENTE DE PROCESSAMENTO DE FRANGO COM O USO DA MICROALGA *PARACHLORELLA KESSLERI*

4.1 RESUMO

A contaminação por nitrogênio é pauta de discussão global cada vez maior, devido os prejuízos ambientais que este composto causa nos corpos hídricos e na saúde humana quando depositado em excesso. Entre todas as fontes causadoras dessa poluição, os efluentes da produção de frango se destacam por produzir um volume expressivo de água residual com elevada concentração nitrogênio. Recentemente a tecnologia a base de microalgas vem se destacando como uma etapa terciária de tratamento para remoção de nitrogênio. O presente estudo teve como objetivo avaliar a utilização da espécie *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente de termo processamento de carne de frango. O estudo foi realizado em 3 etapas. A primeira envolveu um ensaio preliminar para definição do melhor ponto de coleta do efluente da indústria. A segunda foi o cultivo da *P. kessleri* em quatro volumes diferentes de inóculo e densidades celulares e a terceira um ensaio cinético para determinação do tempo de contato. Os resultados obtidos demonstram que a espécie *P. kessleri* teve o melhor crescimento no efluente do ponto do decantador e a taxa de remoção para o nitrogênio foi de 95% em 9 dias e no final a concentração foi abaixo de 20 mg/L e 1 mg/L para NTK e $N-NO_3^-$. Contudo, durante o 3º ciclo do ensaio cinético o crescimento teve declínio, ocasionado pela acumulação dentro da célula de $N-NO_2^-$ (38,4 mg/L). A espécie *P. kessleri* removeu de forma eficiente o nitrogênio do efluente de termo processamento de carne de frango e demonstrou ser uma alternativa como tratamento terciário.

Palavras-chave: Tratamento terciário; Microalga; Processamento de frango; *Parachlorella kessleri*, Nitrogênio

4.2 INTRODUÇÃO

A contaminação por nitrogênio é uma discussão global cada vez maior, pois gera impactos ambientais em todos os ecossistemas, como terrestre, aquático e atmosférico. O ambiente aquático é o mais afetado pela acumulação de nitrogênio, sendo as vias de poluição de origem antropogênica, como a agricultura, deposição atmosférica, indústrias e águas residuais municipais e industriais (RAHIMI; MODIN; MIJAKOVIC, 2020).

Entre todas as vias de contaminação, as águas residuais industriais e/ou municipais constituem uma parcela significativa na geração desses impactos ambientais, devido ao aumento crescente da população e industrialização (CHAN-PACHECO et al., 2021). De forma geral, as indústrias que mais geram efluentes em seus processos são a alimentícia, e estes quando não tratados de forma eficiente pode acarretar em prejuízos ambientais, como a acidificação e a eutrofização (FERREIRA et al., 2018). Como exemplo, a indústria de processamento de carne de frango destaca-se pela elevada presença de nitrogênio na composição do efluente.

Este é considerado o nutriente mais complexo para ser removido, devido aos diferentes estados de oxidação que está presente, como: íon amônia (NH_3) ou íons amônio (NH_4^+), nitrogênio orgânico, nitrato (N-NO_3^-) e nitrito (N-NO_2^-) (KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; TERÁN HILARES et al., 2021a). A indústria avícola teve um crescimento mundial de 1,1% na produção de 2020 para 2021, totalizando quase 136 milhões de toneladas de carne de frango produzidas (FAO, 2021). No Brasil não foi diferente, o país teve um crescimento de 0,95% na produção de 2020 para 2021 com quase 15 milhões de toneladas produzidas (FAO, 2022). Assim, os efluentes provenientes do processamento de carne de frango constituem-se em um aspecto ambiental de relevância.

Nas indústrias de produção de frango são empregados métodos convencionais de tratamentos de efluentes, como, processos biológicos por lodo ativado, lagoas de estabilização e reatores anaeróbios e aeróbios (DAVARNEJAD; NASIRI, 2017; DEL NERY et al., 2007). Embora esses processos sejam eficazes e econômicos, as desvantagens destes processos estão no longo tempo de retenção hidráulica, grandes volumes de reator, alta concentração de biomassa e controle para não haver perda de lodo em lodos ativados (POTRICH et al., 2020). Deste modo, são incentivados a implementação de processos avançados, como, processos eletroquímicos oxidativos avançados, eletrocoagulação, cavitação e nanotecnologia. No entanto, estes processos contém um alto custo para implementação e operação do sistema (TERÁN HILARES et al., 2021a).

Uma alternativa atrativa é o uso da tecnologia à base microalgas para a remoção de nitrogênio em efluente de indústria de frango. O cultivo de microalgas representa a adição de mais etapa no processo de tratamento convencional, sendo definida como tratamento terciário e/ou polimento (LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022a; MONFET; UNC, 2017). As microalgas necessitam de fontes de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, para uma boa regulação do metabolismo e crescimento celular, mas a fonte preferencial de assimilação é no nitrogênio na

forma de íon amônio (NH_4^+), isto, devido ao menor gasto energético para este nutriente ser metabolizado (ROSS et al., 2018; SOROOSH; OTTERPOHL; HANELT, 2022).

Os estudos tem demonstrado que as espécies mais utilizadas e eficazes para fitorremediação de efluentes de diferentes origens industriais tem sido o gênero *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp., principalmente para remoção de nitrogênio (MONFET; UNC, 2017). Katircioğlu Sinmaz; Erden; Şengil (2022) obtiveram uma remoção de 99% de nitrogênio amoniacal ao cultivar *Chlorella vulgaris* em efluente do processo biológico de abatedouro de frango. Cui et al. (2020) cultivaram *Chlorella sorokiniana* em efluente obtido do processo de lavagem de abatedouro de frango e removeram 84,5% de nitrogênio amoniacal. Oliveira et al. (2019) obtiveram cerca de 97% de remoção de amônia ao usar *Scenedesmus obliquus* no efluente de abatedouro de aves. Wang et al. (2021) utilizaram a espécie *Chlorella vulgaris* em efluente de suinocultura e obteve uma remoção de 96% de amônia.

Entretanto, poucos são os estudos que envolvem o cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* para remediação de nitrogênio em efluente de termo processamento de carne de frango. Recentemente, Qu et al. (2019) estudaram a capacidade desta espécie para remover nutrientes de efluente de suinocultura e produção de carboidrato. Lv et al. (2018) compararam o desempenho das espécies *Chlorella vulgaris*, *Chlorococcum* sp., *Parachlorella kessleri*, *Scenedesmus obliquus* e *Scenedesmus quadricauda* para o tratamento de efluente de fazenda de gado. Ainda, Koutra; Grammatikopoulos; Kornaros (2017) avaliaram a eficácia da *Parachlorella kessleri* e *Acutodesmus obliquus* em efluente de digestão anaeróbia derivado da co-digestão de produtos lácteos em fim de vida e sua produção de lipídios.

A novidade deste estudo é na aplicação da *Parachlorella kessleri* para remoção específica do nitrogênio no efluente de termo processamento de carne de frango, visto que, nenhum outro estudo relata o uso desta espécie com foco específico no nitrogênio. Portanto, o objetivo deste trabalho é avaliar a viabilidade de utilização da espécie *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente terciário de termo processamento de carne de frango para remoção de nitrogênio.

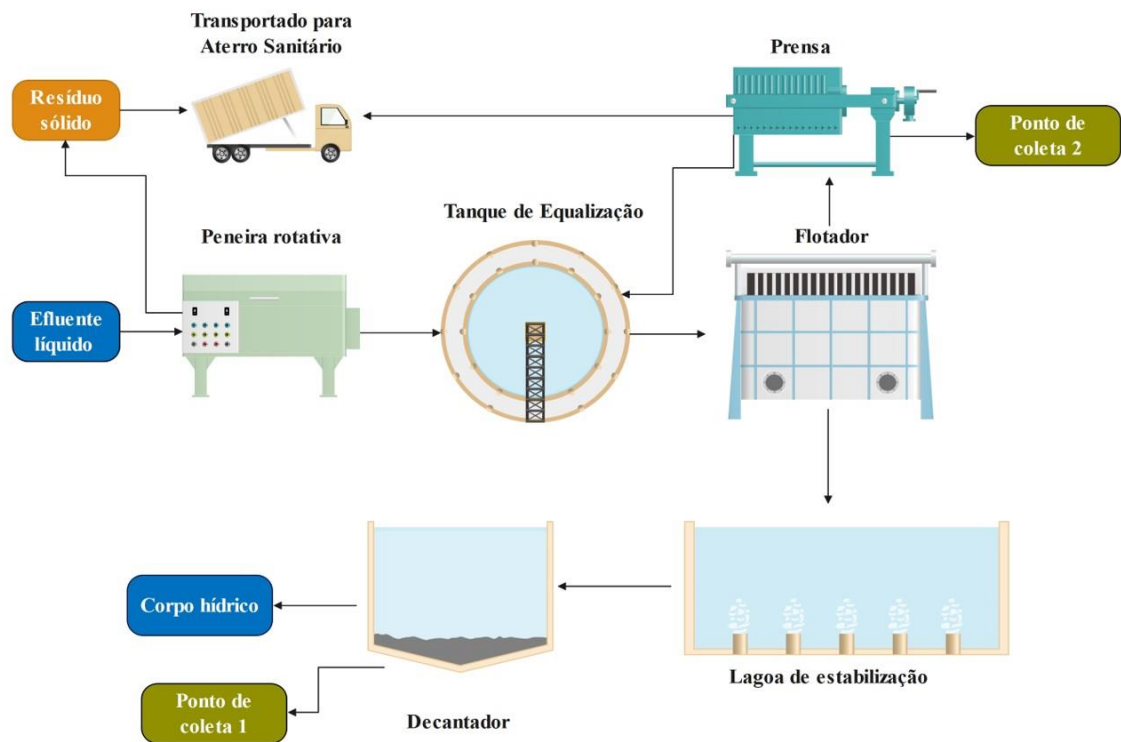
4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Coleta e caracterização do efluente de termo processamento de carne de frango

Foram coletados dois tipos de efluentes em uma indústria de termo processamento de carne de frango. A indústria possui uma estação de tratamento de efluentes (ETE) baseado em

flotação por ar dissolvido, seguido por processo biológico por meio de lagoas (anaeróbias e aeróbias) de tratamento. Desta forma, é possível obter efluentes em diferentes etapas do tratamento e verificar o local onde a microalga teria a melhor adaptação e remoção de nitrogênio da fase aquosa. Com base neste propósito, foram coletados efluentes em dois pontos da ETE, a Figura 2 ilustra a planta da ETE e os pontos de coleta. O primeiro é o efluente do decantador (ED), após o tratamento biológico. O outro é o efluente proveniente da prensa desaguadora, denominado como clarificado pós prensa (EPP), este retorna para a etapa de tratamento primário. No total foram realizadas 3 coletas para o ED e 1 coleta para EPP.

Figura 2 - Fluxograma da ETE da indústria de termo processamento de carne de frango e pontos de coleta



Elaborado pela autora (2022)

A caracterização do efluente foi realizada após cada coleta no Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos – LABTRAT, por meio de parâmetros físico-químicos. As análises físico-químicas e de nutrientes foram determinadas conforme os procedimentos descritos no standard methods (APHA, 2018) (Tabela 1).

Tabela 1 - Metodologias usadas para caracterização do efluente de termo processamento de carne de frango

Parâmetro	Unidade	Método	Referência
Cor aparente	Pt-Co	2120 C	(APHA, 2005)
Turbidez	NTU	2130 B	(APHA, 2005)
pH	-	4500-H ⁺ B	(APHA, 2005)
Temperatura	°C	2550	(APHA, 2005)
Alcalinidade	mg.L ⁻¹ CaCO ₃	2320 B	(APHA, 2005)
Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO ₅)	mg.L ⁻¹ O ₂	5210 B	(APHA, 2005)
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	mg.L ⁻¹	5220 D	(APHA, 2005)
Nitrogênio total Kjeldhal (NTK)	mg.L ⁻¹	4500-N _{org}	(APHA, 2005)
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	mg.L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻	4500-N-NO ₃ ⁻	(APHA, 2005)
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	mg.L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻	4500-N-NO ₂ ⁻	(APHA, 2005)
Fósforo (PO ₄ ³⁻)	mg.L ⁻¹ P-PO ₄ ³⁻	4500-P E	(APHA, 2005)
Sólidos Suspensos Totais (SST)	mg.L ⁻¹ SST	2540 D	(APHA, 2005)

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

4.3.2 Organismo e condições de cultivo

A espécie de microalga *Parachlorella kessleri* LCBA-001, proveniente do banco de cepas Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas – LCBA – UDESC e mantida no Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos – LABTRAT. A microalga *Parachlorella kessleri* foi mantida em meio sintético TAP *medium*, contendo a seguinte composição: Tris base [(H₂NC(CH₂OH)₃], TAP-salts solution (NH₄Cl – 15 g/L; MgSO₄ .7H₂O – 4 g/L; CaCl₂ .2H₂O – 2 g/L), Phosphate solution (K₂HPO₄ – 28,8 g/100 mL; KH₂PO₄ - 14,4 g/100 mL), Trace elements solution (Na₂EDTA.2H₂O – 5 g/100 mL; ZnSO₄ .7H₂O – 2,2 g/100 mL; H₃BO₃ – 1,14 g/100 mL; MnCl₂ .4H₂O – 0,5 g/100 mL; FeSO₄ .7H₂O – 0,5 g/100 mL; CoCl₂ .6H₂O – 0,16 g/100 mL; CuSO₄ .5H₂O – 0,16 g/100 mL; (NH₄)₆MoO₃ – 0,11 g/100 mL) and Acetic acid P.A (CH₃COOH) (GORMAN; LEVINE, 1965).

Para a realização de todos os ensaios experimentais, a espécie foi aclimatada previamente no efluente de termo processamento de carne de frango pelo período de 15 dias. Em todos os experimentos, as condições de cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* foram com aeração constante, iluminação artificial por lâmpadas brancas LED com intensidade de $46 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ e um ciclo claro/escuro de 12/12 h, conforme Figura 3. A densidade celular foi estimada a cada 24 horas, utilizando hemocitômetro para contagem celular e também por densidade óptica ($\text{OD}_{680\text{nm}}$) através da determinação da absorvância utilizando espectrofotômetro (Prove 100, Merck®). Os valores de temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram mensurados diariamente.

Figura 3 - Sistema de cultivo implementado para *P. kessleri*



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

4.3.3 Delineamento experimental

Os experimentos deste estudo foram realizados em três etapas. A primeira teve como objetivo realizar um ensaio preliminar para definição do ponto de coleta e tipo de efluente para ser usado nos ensaios posteriores. A segunda etapa avaliou quatro diferentes volumes de inóculo resultando em diferentes densidades celulares no ponto definido pelo ensaio anterior. A terceira e última etapa foi o desenvolvimento de um ensaio cinético para verificar a influência de parâmetros físico-químicos na remoção do nitrogênio conforme o tempo de contato.

4.3.4 Definição do ponto de coleta: ensaio preliminar

O ensaio preliminar foi realizado individualmente com cada ponto de coleta, sendo utilizado 100% de efluente do decantador (ED) e 100% do efluente clarificado pós-prensa (EPP). Para cada efluente foram determinados três tratamentos com volumes de inóculo distintos resultando em diferentes densidades celulares, sendo T5 (5 mL - 1×10^7 cél.mL⁻¹ ED e 5×10^6 cél.mL⁻¹ EPP), T10 (10 mL - 2×10^7 cél.mL⁻¹ ED e 1×10^7 cél.mL⁻¹ EPP) e T20 (20 mL - 4×10^7 cél.mL⁻¹ ED e 2×10^7 cél.mL⁻¹ EPP).

A microalga *Parachlorella kessleri* foi cultivada em frascos Erlenmeyer 1000 mL contendo 600 mL do efluente de cada ponto de coleta (ED e EPP). Para determinação da remoção de nutrientes foram coletadas amostras com sazonalidade de 3 dias em um intervalo de 16 dias.

4.3.5 Otimização do crescimento da microalga no efluente

O ensaio experimental 2 foi realizado em quatro tratamentos com volumes diferentes de inóculo para o efluente do ponto de coleta do decantador (ED), todos em triplicata, totalizando 12 unidades experimentais. Os volumes de inóculos (v/v) e densidades celulares (DC) foram, T30 (30 mL - 6×10^6 cél.mL⁻¹), T45 (45 mL - 8×10^6 cél.mL⁻¹), T60 (60 mL - 1×10^7 cél.mL⁻¹) e T80 (80 mL - 2×10^7 cél.mL⁻¹).

A microalga *Parachlorella kessleri* foi cultivada em frascos Erlenmeyer com volume de 1000 mL contendo 800 mL do efluente (ED). A determinação da remoção de nutrientes foram coletadas amostras com sazonalidade de 2 dias no intervalo de 14 dias.

4.3.6 Ensaio cinético

O ensaio cinético foi realizado em batelada, sendo utilizado um béquer no volume de 2000 mL contendo 1000 mL de efluente (ED) e 300 mL do inóculo de *Parachlorella kessleri*. O cultivo foi homogeneizado por um agitador mecânico (marca Edutec e modelo EEQ-9034) com velocidade ajustada para 300 rpm. As condições de cultivo e o crescimento celular da espécie foram determinados conforme descrito nas etapas anteriores.

O monitoramento do oxigênio dissolvido, pH e temperatura foi alternado a cada batelada/ciclo. No 1º ciclo foram mensurados a cada 1h, no 2º ciclo a cada 4h e no 3º ciclo a cada 6h, em todos com intervalo máximo de coleta foi de 12h.

Para determinação da taxa de remoção nitrogênio *versus* tempo foram realizados 3 ciclos, onde cada ciclo consiste no enchimento com o efluente, mistura e reação (inoculação da

microalga e mistura desta com o efluente por intermédio do agitador vertical). Após o início da agitação, foi retirada a amostra inicial. O tempo de reação para o início e término de cada batelada/ciclo estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Tempo de reação para cada ciclo experimental

Ciclo	Tempo de reação
Ciclo 1	10 dias (208h)
Ciclo 2	3 dias (72h)
Ciclo 3	2 dias (48h)

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na etapa de decantação, a agitação foi interrompida para possibilitar a sedimentação da microalga. Em sequência, a biomassa foi separada do efluente tratado por decantação, de forma que o sobrenadante foi removido sem ressuspender a biomassa da microalga. Ao encerrar estas etapas, iniciou-se um novo ciclo, onde foi adicionado novamente a efluente e restabelecida a agitação. Após, foi retirada uma nova amostra para análise.

O efluente coletado foi armazenado a 4°C para ser utilizado durante todo o ensaio cinético. As amostras foram coletadas 2 vezes ao dia para determinação de nutrientes e centrifugadas a 4000 rpm por 15 min e o sobrenadante foi retirado e armazenado à 4°C.

4.3.7 Determinação de parâmetros de crescimento

Em todos os ensaios experimentais foram analisadas a cinética de crescimento, sendo mensurada pela taxa de crescimento específico (μ), tempo de duplicação (T_d) e produtividade em biomassa seca (P_b), abaixo segue a equação 1 para μ .

$$\mu = \frac{\ln(X_t - X_0)}{\Delta t} \quad (\text{Eq. 1})$$

Quando X_t e X_0 são a densidade inicial e final da microalga durante o período de cultivo, e Δt ($T_t - T_0$) são o tempo de cultivo final e inicial em dias.

O tempo de duplicação (T_d) da células de microalga foi mensurado através do valor obtida pela taxa de crescimento específico, pela equação 2 (MOHAN SINGH et al., 2020).

$$T_d = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0,6931}{\mu} \quad (\text{Eq. 2})$$

A produtividade em biomassa seca foi determinada utilizando a equação 3 (ARREDONDO et al., 2007; SILKINA et al., 2015).

$$P_b \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{X_{max} - X_0}{V_f} \quad (\text{Eq. 3})$$

Quando X_{max} é o peso da amostra seca + filtro e X_0 é o peso do filtro seco e o V_f é o volume de amostra filtrada.

4.3.8 Remoção de nutrientes

Para determinação dos nutrientes durante os intervalos de tempo estabelecidos para cada ensaio experimental foram coletadas alíquotas dos cultivos e centrifugadas a 4000 rpm por 15 min e o sobrenadante foi analisado.

Os nutrientes analisados foram Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), nitrito (N-NO_2^-), nitrato (N-NO_3^-), fósforo (PO_4^{3-}) e DQO, a execução da análise foi conforme descrito na Table 1. A obtenção da eficiência de remoção foi determinada utilizando a equação 4.

$$\text{EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO (ER)} = \left(\frac{X_0 - X_f}{X_0} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

4.3.9 Análise estatística

Em todas as etapas as análises foram realizadas em triplicata. Para avaliação da significância dos parâmetros estudados em relação ao desempenho da microalga para remoção de nitrogênio foi executada pela ANOVA fator único e teste de Tukey com $p < 0,05$. O *software Statistica* versão 10 foi utilizado para executar os cálculos necessários. Os gráficos foram plotados com auxílio do *software SigmaPlot* 14.5.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Característica do efluente de processamento de frango

O efluente de termo processamento de carne de frango é caracterizado por constituir elevadas concentrações de compostos orgânicos e inorgânicos. O efluente deste estudo foi proveniente da etapa final do tratamento biológico (ED) e o percolado obtido a partir do

processo pós-prensa (EPP). Os resultados obtidos para os principais parâmetros como, NTK, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, PO₄³⁻ e DQO Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização do efluente da indústria de processamento de frango durante o período de julho de 2021 à fevereiro de 2022 para o Efluente Pós-prensa (EPP) e o Efluente do Decantador (ED)

Parâmetros avaliados	EPP	ED	ED	ED
	Coleta 1 (julho/21)	Coleta 1 (julho/21)	Coleta 2 (novembro/21)	Coleta 3 (fevereiro/22)
pH	5,03 ± 0,15	6,67 ± 0,15	7,53 ± 0,06	8,43 ± 0,06
T (°C)	17,40 ± 0,20	17,13 ± 0,12	24,33 ± 0,06	20,40 ± 0,00
Cor Aparente (Pt-Co)	1528,33 ± 6,29	60,03 ± 0,76	80,13 ± 0,06	52,53 ± 0,15
Turbidez (NTU)	716,67 ± 14,43	17 ± 0,00	14 ± 0,00	8 ± 0,00
Alcalinidade (mg. L ⁻¹)	1054,1 ± 36,50	536,8 ± 0,85	377,7 ± 5,09	659,2 ± 5,37
DQO (mg. L ⁻¹)	9707,19 ± 15,49	93,59 ± 5,53	64,90 ± 5,3	74,71 ± 10,5
DBO (mg. L ⁻¹)	485 ± 21,21	14 ± 1	13,67 ± 2,08	20 ± 0,00
NTK (mg. L ⁻¹)	1359,27 ± 37,29	116,97 ± 16,64	136,14 ± 5,34	198,39 ± 6,64
N-NO ₂ ⁻ (mg. L ⁻¹)	3,40 ± 0,12	2,38 ± 0,26	<0,5	<0,5
N-NO ₃ ⁻ (mg. L ⁻¹)	7,8 ± 0,89	2,15 ± 0,85	<0,5	<0,5
PO ₄ ³⁻ (mg. L ⁻¹)	99,02 ± 25,23	5,91 ± 0,34	5,45 ± 0,28	22,11 ± 0,69
Sólidos Suspensos Totais (mg. L ⁻¹ SST)	183,8 ± 150,4	11,7 ± 2,5	59 ± 4,24	16,33 ± 0,58

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Conforme resultados demonstrados, a concentração de nitrogênio total Kjeldahl nos três meses de coleta foram superiores ao permitido pela Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011, onde os padrões para lançamento de efluente no corpo hídrico deve ser de 20 mg.L⁻¹ para o nitrogênio amoniacal (BRASIL, 2011). Cabe destacar que o método Kjeldahl detecta o nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal. Neste caso, o nitrogênio orgânico é um precursor de nitrogênio amoniacal. No estudo de Katircioğlu Sinmaz; Erden; Şengil (2022) ao utilizar efluente de abatedouro de frango após o tratamento biológico obteve uma concentração de 13 mg.L⁻¹ de NH₄⁺ e 100 mg.L⁻¹ de N-NO₃⁻. Contudo, os resultados obtidos neste estudo se assemelham com os resultados encontrados por Cui et al. (2020), Azam et al. (2020) e Hilares et al. (2021b) para efluente de abatedouro de frango sem a realização do tratamento.

Este fator demonstra o excesso de nitrogênio em CTWW apresentava. Para N-NO₂⁻ não é estabelecido pela legislação uma concentração limite para descarte, contudo, para o padrão

de potabilidade de água o valor não deve exceder 1 mg. L^{-1} (Ministério da Saúde nº888 de 2021), neste caso, os valores para os pontos ED e EPP estão acima do limite para potabilidade na coleta referente a julho/21. O N-NO_3^- segue na mesma instância que N-NO_2^- , sendo o limite máximo para potabilidade de água 10 mg. L^{-1} , este nutriente encontra-se em conformidade com os limites estabelecidos pela legislação citada acima (BRASIL, 2021).

A microalga prefere o nitrogênio na forma de nitrogênio amoniacal, mas quando a concentração deste é elevada ($> 664 \text{ mg. L}^{-1}$ para *Chlorella* spp.) o efluente pode ser tóxico para a espécie (SU, 2021). Esta faixa de concentração pode ser observada para o efluente clarificado pós-prensa na forma de NTK ($1359,27 \pm 37,29 \text{ mg. L}^{-1}$), conforme mostra na Tabela 3.

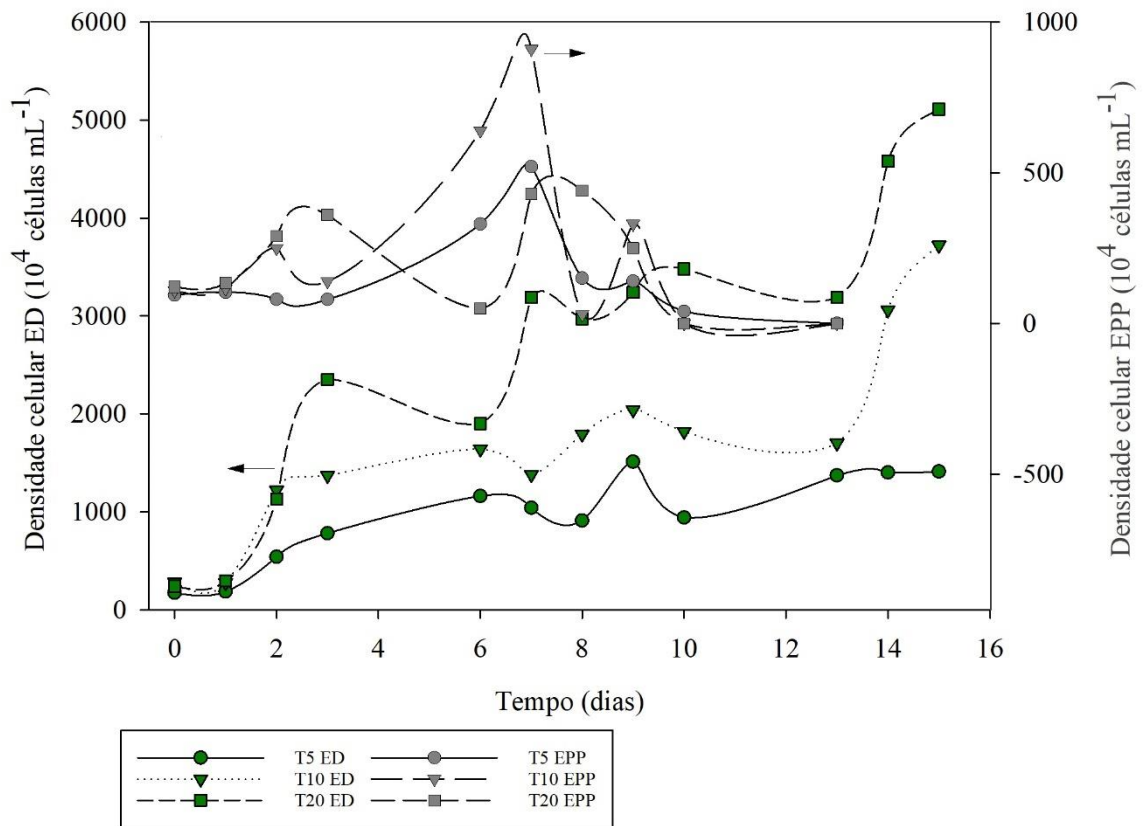
Os resultados para PO_4^{3-} demonstram que este parâmetro está dentro dos limites estabelecidos pela legislação para os meses de julho e novembro/21, mas encontrou-se acima no mês de fevereiro/21 para ED, bem como, acima do valor permitido no EPP. Já os parâmetros de turbidez, cor aparente e sólidos suspensos obtidos para o efluente ED são inferiores ao obtido para o EPP. Estes parâmetros interferem diretamente no crescimento celular das microalgas, diminuindo a capacidade de penetração de luz no cultivo e conseqüentemente reduz a taxa de fotossíntese (MOHD UDAIYAPPAN et al., 2017).

Diante dos resultados obtidos, o efluente pós-prensa (EPP) demonstra ter um potencial para ser tóxico ao cultivo da espécie de microalga, devido à alta concentração de nitrogênio presente. Além disso, a elevada turbidez e cor aparente presente pode ser um fator inibitório para o crescimento da microalga.

4.4.2 Ensaio preliminar: comparação entre dois pontos de coleta

O crescimento celular da *P. kessleri* no efluente do decantador (ED) foi superior ao seu cultivo no efluente pós-prensa (EPP). A curva de densidade celular demonstra o crescimento que a *P. kessleri* obteve nos três tratamentos e nos dois pontos de coletas (Figura 4).

Figura 4 - Variação da densidade celular (cél. mL^{-1}) em cada tratamento (T5 – 5 mL, T10 – 10 mL e T20 - 20 mL) referente ao cultivo no efluente decantador (ED) e pós-prensa (EPP) ao longo dos dias de cultivo



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

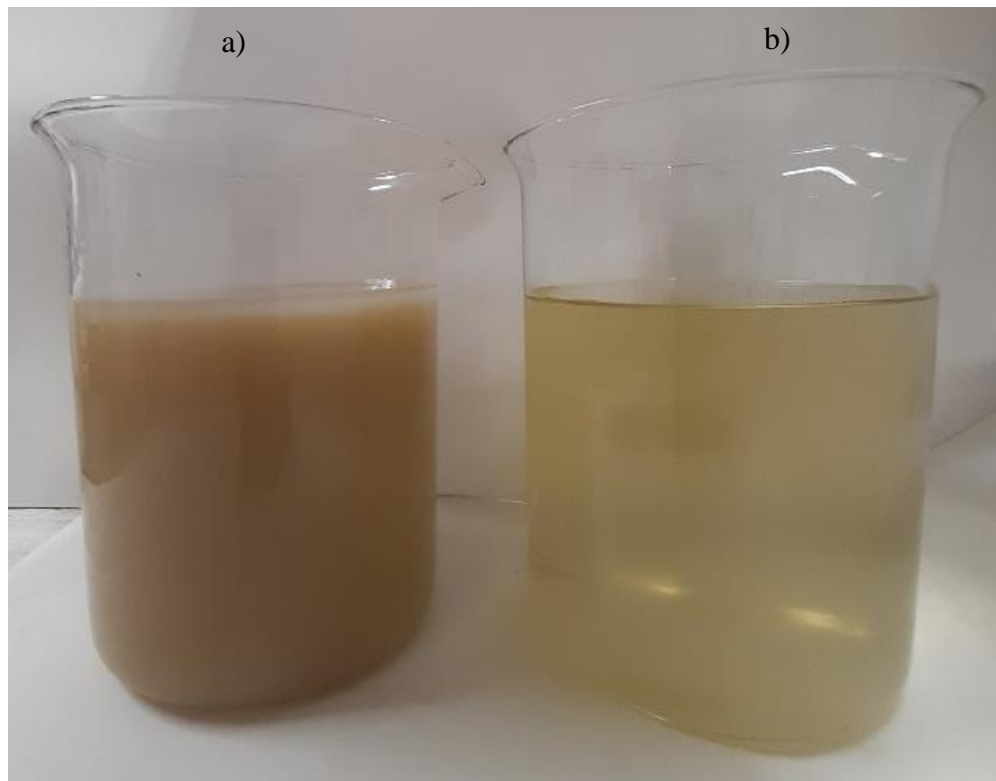
Em conformidade com o gráfico de crescimento, observa-se que o tratamento T20 do ponto de coleta ED obteve um crescimento superior aos demais tratamentos e atingiu a fase estacionária no 16º dia, mas durante o período experimental obteve aumentos significativos na densidade celular no 7º e 10º dia. O aumento da densidade celular pode ser correlacionado ao aumento de temperatura, que iniciou em 16°C e a partir do 7º dia foi para 18°C até atingir 22°C.

A temperatura adequada para o cultivo da microalga *P. kessleri* deve ser em torno de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, conforme mencionado na literatura (AZAM et al., 2020; SHARMA; PARUL; GENERAL, 2019; SINGH; SINGH, 2015; WANG et al., 2021, 2010). O crescimento de uma população de microalgas é afetado por fatores biológicos, físico e químicos. A temperatura é um dos parâmetros que influenciam no crescimento celular, pois em baixas temperaturas o crescimento pode ser lento, devido à baixa atividade metabólica (MOHSENPOUR et al., 2021; SINGH; SINGH, 2015). Entretanto, o experimento foi conduzido durante o inverno no mês de julho/2021. Este fator elucidou a baixa temperatura e o tempo prolongado para espécie atingir a fase exponencial.

Outro parâmetro importante é o pH do meio, a faixa ideal de pH para microalgas de água doce, como a *P. kessleri* é relatada entre 7 e 9 (KUMAR et al., 2010; MOHSENPOUR et al., 2021). Os resultados obtidos para pH se mantiveram nesta faixa, onde os valores foram de 8,8 a 9,3 para ED e 6,6 a 6,7 para EPP. Estes valores corroboram com os resultados encontrados por Oliveira et al. (2019) ao cultivar a microalga *Scenedesmus obliquus* em água residual de abatedouro de frango.

A inibição do crescimento neste ponto de coleta do efluente pode ter sido ocasionada pela alta presença de partículas coloidais e, conseqüentemente uma turbidez e cor aparente elevada, fator este que interferiu na taxa fotossintética. A Figura 5 ilustra imagens dos efluentes nos dois pontos de coleta. Além disso, a elevada concentração ($>1000 \text{ mg. L}^{-1}$) de nitrogênio total Kjeldahl deste efluente pode ter se tornado tóxica para a espécie. Em conformidade com o estudo de Su, (2021) acima de $>600 \text{ mg. L}^{-1}$ o NH_4^+ é transformado para NH_3 e tem caráter tóxico para espécie da classe Clorofíceas, sendo a mesma classe pertencente à *P. kessleri*. De acordo com o estudo de Cui et al. (2020) ao cultivar *Chlorella vulgaris* em 100% de efluente de suinocultura o crescimento foi inibido por concentração igual a 678 mg/L de NH_4^+ .

Figura 5 - Efluente dos pontos de coleta. a) efluente pós-prensa (EPP) e efluente do decantador (ED).

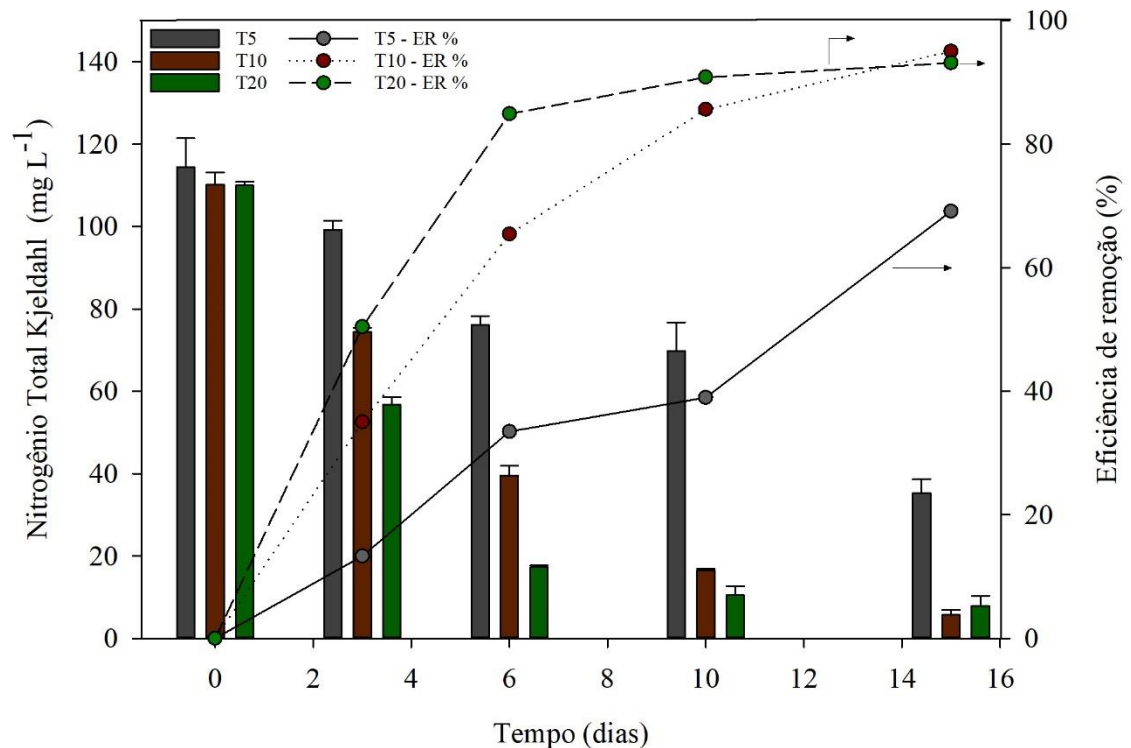


Fonte: Elaborado pela autora (2022)

4.4.2.1 Remoção de nutrientes: nitrogênio e fósforo

A concentração inicial de nitrogênio total Kjeldahl está representada na Tabela 3 e a curva de remoção deste para cada tratamento e sua eficiência de remoção estão demonstradas nas Figuras 6.

Figura 6 – Concentração inicial e final de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) durante o cultivo e eficiência de remoção pela espécie *Parachlorella kessleri* nos tratamentos T5, T10 e T20 no efluente do decantador (ED).



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

A partir do 7º dia de cultivo a concentração de nitrogênio foi igual a $76,14 \pm 2,13$, $39,55 \pm 2,36$, $17,27 \pm 0,45$ mg. L⁻¹ para T5, T10 e T20, respectivamente. Estes resultados demonstram que T10 e T20 obtiveram uma eficiência de remoção (ER) igual a 65,43% e 84,9%. Neste tempo de cultivo, a espécie *P. kessleri* obteve um aumento no crescimento celular e também na temperatura, estes fatores estão interligados ao consumo rápido de nutrientes inorgânico, como nitrogênio e fósforo (MOHSENPOUR et al., 2021).

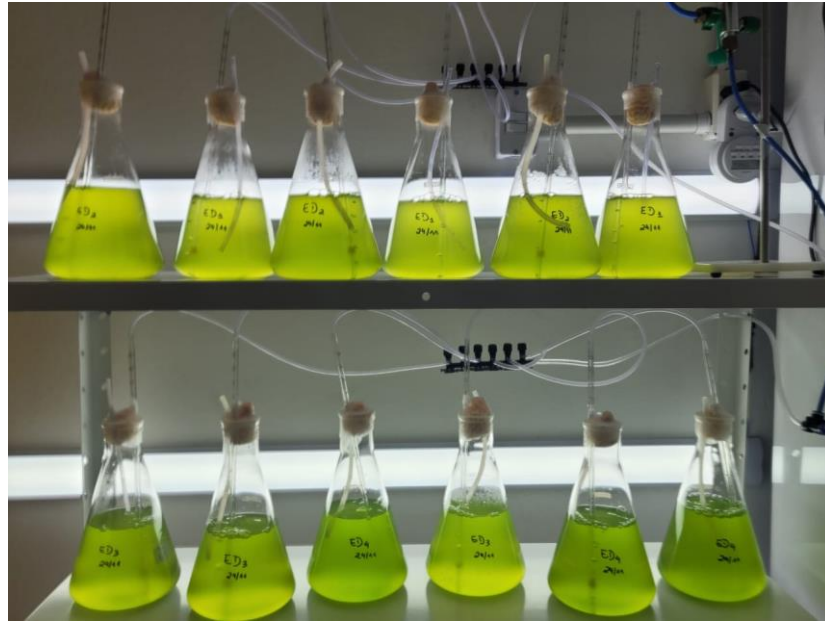
O tratamento T20 demonstrou resultado significativamente superior quando comparado com T5 e T10, além disso, T20 se enquadrou nos limites exigidos pela legislação brasileira (Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011) (BRASIL, 2011). Ao final do cultivo, as concentrações de nitrogênio foram menores que 10 mg. L^{-1} , sendo, $5,69 \pm 1,19$ com 95% de remoção para T10 e $7,82 \pm 2,51$ com 93,2% de remoção para T20, estes tratamentos não foram significativos entre si, contudo, ambos diferiram de T5. O menor volume de inóculo não demonstrou eficácia para a remoção de nitrogênio, assim como, para o crescimento celular. Além do nitrogênio, a espécie *P. kessleri* obteve uma remoção de fósforo igual a 56,5%, 75,3% e 37,1% para T5, T10 e T20, onde todos os tratamentos diferiram significativamente entre si, mas, T10 alcançou uma remoção superior aos demais tratamentos. Singh et al. (2020), cultivando *Chlorella pyrenoidosa* em efluente de lixiviado de excreta de frango obteve uma taxa de remoção igual a 80,19% para NTK no 20º dia e 95,14% para fósforo, mostrando que neste estudo o desempenho da *P. kessleri* foi superior para remoção de NTK e inferior para fósforo.

Entretanto, os resultados obtidos para os tratamentos utilizando EPP no 13º dia, tempo onde a espécie se encontrava na fase de decomposição, obtiveram uma redução de nitrogênio total de 17% e 4% para T5 e T10, mas para T20 ocorreu o processo inverso, com acréscimo de 12% de NTK. Em todos os tratamentos a concentração de NTK foram superiores a 700 mg. L^{-1} . Portanto, em conformidade com as condições de crescimento, taxas de remoção de nitrogênio e características do ponto de coleta EPP definiu-se que este não favoreceu o cultivo da microalga *P. kessleri*, sendo determinado o ponto de coleta ED para a realização dos posteriores ensaios experimentais.

4.4.3 Otimização da microalga *P. kessleri* no efluente

Neste ensaio experimental, a espécie *P. kessleri* foi cultivada em quatro diferentes volumes de inóculo no efluente do decantador (ED), compostos por T30 (30 ml de inóculo e $6 \times 10^6 \text{ cél.mL}^{-1}$), T45 (45 ml de inóculo e $8 \times 10^6 \text{ cél.mL}^{-1}$), T60 (60 ml de inóculo e $1 \times 10^7 \text{ cél.mL}^{-1}$) e T80 (80 ml de inóculo e $2 \times 10^7 \text{ cél.mL}^{-1}$). A Fig. 7 ilustra o sistema de cultivo deste ensaio.

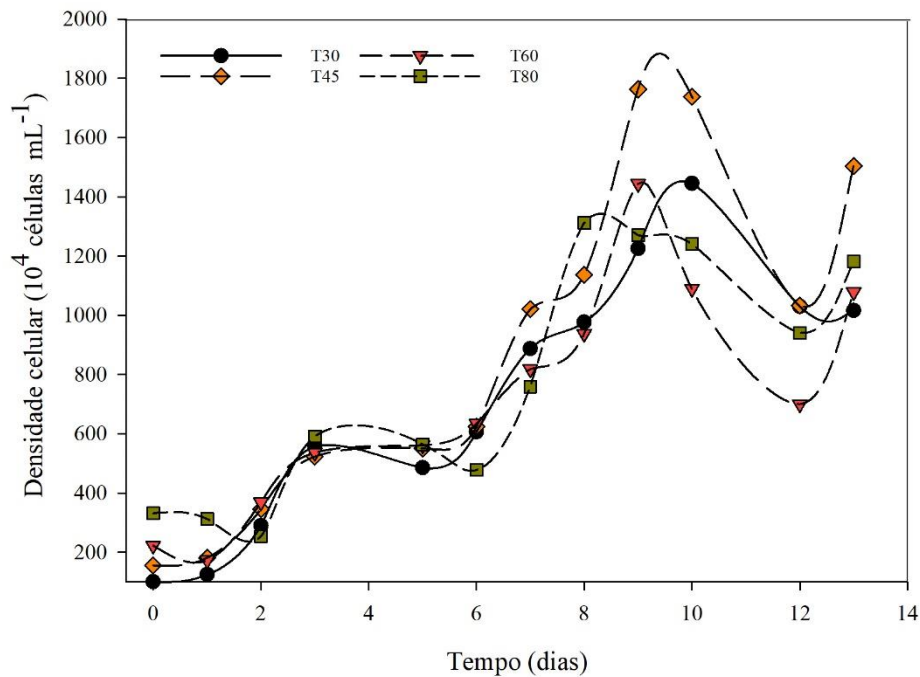
Figura 7 - Sistema de cultivo com a microalga *P. kessleri*



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Conforme ilustra a Figura 8 a *P. kessleri* obteve um maior crescimento celular e atingiu a fase estacionária entre os tempos 9° e 10° dia, corroborando com os resultados obtidos por Oliveira et al. (2019) onde a microalga *Scenedesmus obliquus* atingiu a mesma fase entre os dias 10 e 12. O crescimento celular para T30 e T45 foram superiores a T60 e T80, sendo que a densidade celular máxima foram $1585 \times 10^4 \text{ céL.mL}^{-1}$ no 10° dia, $1877 \times 10^4 \text{ céL.mL}^{-1}$ no 11° dia, $1444 \times 10^4 \text{ céL.mL}^{-1}$ e $1488 \times 10^4 \text{ céL.mL}^{-1}$ ambos no 9° dia, respectivamente. Estes resultados demonstram que o cultivo no T60 e T80 apresentaram resultados inferiores ao crescimento da *P. kessleri* comparado com T30 e T45.

Figura 8 - Variação da densidade celular (céL.mL^{-1}) em cada tratamento (T30, T45, T60 e T80) referente ao cultivo no efluente do decantador (ED) ao longo dos dias de cultivo



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A taxa de crescimento específico comprova este fator, onde para T30 e T45 não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (valor $p > 0,05$), contudo, quando T30 é comparado aos tratamentos T60 e T80 estes obtiveram diferença significativa (valor $p < 0,05$), este comportamento também foi observado para o tempo de duplicação. Entretanto, para o tratamento T45, o tempo de duplicação apresentou diferença estatisticamente significativa (valor $p < 0,05$) com T80, conforme ilustra a Tabela 4.

Tabela 4 - Crescimento específico, tempo de duplicação e produtividade de biomassa da microalga *Parachlorella kessleri* em quatro volumes de inóculo (T30 – 30 mL, T45 – 45 mL, T60 – 60 mL e T80 – 80 mL) cultivadas no efluente do decantador (ED) de processamento de frango.

Tratamentos	Taxa de crescimento específico (d^{-1})	Tempo de duplicação (d^{-1})	Produtividade de biomassa – dia 1 ($g.L^{-1}.d^{-1}$)	Produtividade de biomassa – dia 14 ($g.L^{-1}.d^{-1}$)
T30	$0,29 \pm 0,03$ abc	$2,45 \pm 0,30$ acd	$0,07 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,09$
T45	$0,23 \pm 0,03$	$2,98 \pm 0,35$ bd	$0,08 \pm 0,00$	$0,35 \pm 0,09$
T60	$0,20 \pm 0,02$ ba	$3,53 \pm 0,43$ ca	$0,09 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,05$
T80	$0,17 \pm 0,02$ ca	$4,06 \pm 0,51$ dab	$0,11 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,06$

Nota: Letras diferentes nas linhas indicam que, no nível de significância de 5%, há diferença significativa entre as médias. Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O resultado comprova que os parâmetros de crescimento celular foram melhores ao utilizar a concentração de 30 mL (T30) e 45 mL (T45) de inóculo da cepa de *P. kessleri*, onde nestes tratamentos a microalga cresceu mais rápido, e demonstrou que a proporção de 80 mL (T80) teve o pior desempenho e um crescimento lento. De acordo com Wang et al. (2021) ao *Chlorella vulgaris* em efluente de suinocultura alcançou a taxa de crescimento de 0,38, e Singh et al. (2020) ao cultivar *Chlorella pyrenoidosa* em lixiviado de excreta avícola obteve uma taxa de 0,40, estes resultados diferem dos valores deste estudo, contudo, o tempo de duplicação corrobora com os valores para T30 e T45.

A produtividade de biomassa seca não obteve diferença significativa entre os quatro tratamentos referente ao início e final, conforme demonstra na tabela 3. Os valores de produtividades finais variaram de 0,24 a 0,35 g.L⁻¹.d⁻¹, estes resultados corrobora com o Wang et al. (2021), que obteve 0,238 g.L⁻¹.d⁻¹ para *Chlorella vulgaris*. Entretanto, Aketo et al. (2020) ao cultivar *P. kessleri* em efluente de gado teve produtividade igual a 0,101 g.L⁻¹.d⁻¹, demonstrando que neste estudo o resultado para a mesma espécie foi maior.

Em relação aos parâmetros de pH, temperatura e oxigênio dissolvido para todos os quatro tratamentos mantiveram constante, sendo igual a $8,2 \pm 1$, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ e $5,5 \pm 1$ mg. L⁻¹, respectivamente. Os parâmetros de pH e temperatura estão em conformidade ao encontrado na literatura para a espécie (MOHSENPOUR et al., 2021; WANG et al., 2021), entretanto, a concentração de oxigênio foi inferior ao previsto pela literatura, onde obtém concentrações acima de 8 g.m⁻³ (KAZBAR et al., 2019).

4.4.3.1 Remoção de nutrientes

O nitrogênio presente no efluente de termo processamento de carne de frango foi avaliado como nitrogênio total Kjeldahl (NTK), mas a composição predominante deste efluente é na forma de íon amônio (NH₄⁺), esta informação foi corroborada após a verificação e consulta ao responsável pela gestão ambiental e operação da ETE da empresa. Além desta forma, o nitrogênio também se apresenta na forma de nitrito (N-NO₂⁻) e nitrato (N-NO₃⁻), mas neste efluente as concentrações estavam baixas em comparação ao NTK. Na Tabela 5, estão demonstradas as concentrações iniciais e finais de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ para cada tratamento, onde no final do cultivo em ambas formas a concentração foi inferior a 0,5 mg. L⁻¹. As concentrações baixas de N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻ são explicadas pela não ocorrência do processo de nitrificação pelas microalgas, pois estas apenas assimilam estes nutrientes, e a reação é catalisada pelas enzimas

nitrato redutase citosólico e nitrito redutase cloroplástico com dois redutores precursores, o NADH e ferredoxina (MOHSENPOUR et al., 2021; RAHIMI; MODIN; MIJAKOVIC, 2020).

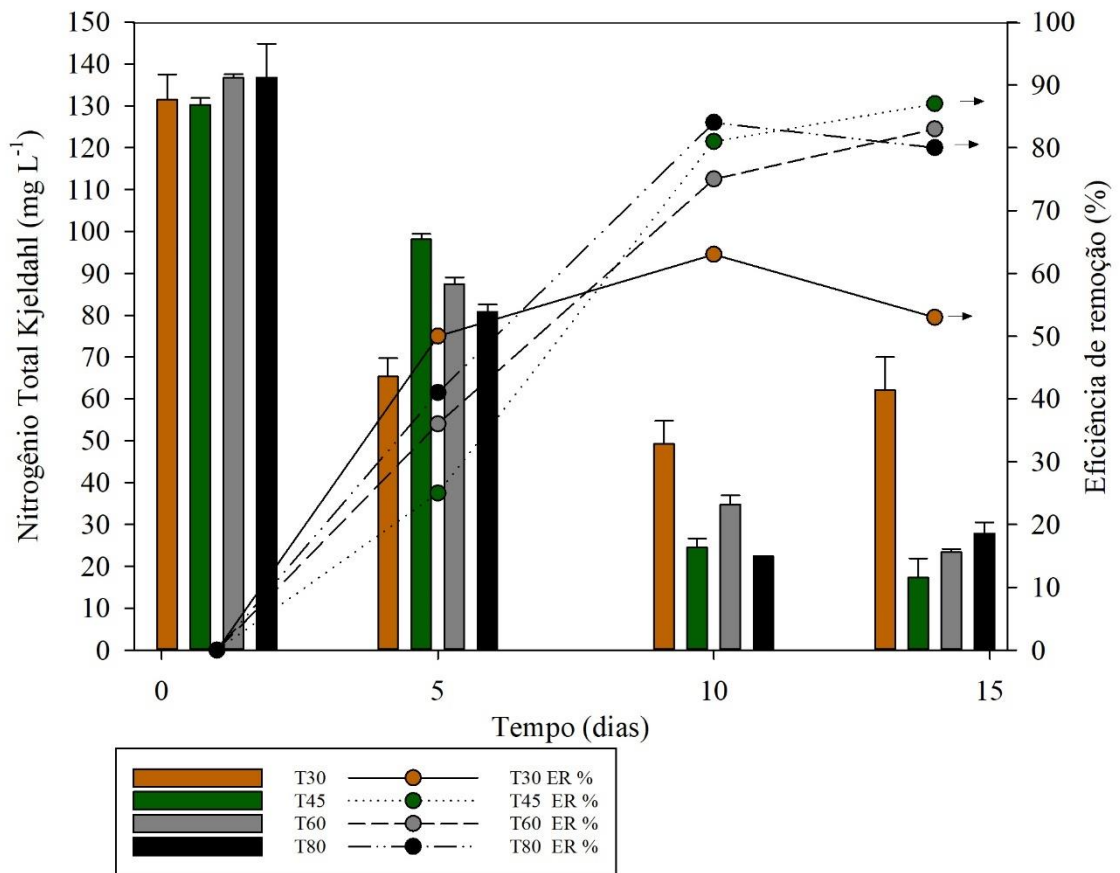
Tabela 5 - Concentração de nitrito (N-NO_2^-) e nitrato (N-NO_3^-) durante o cultivo da *P. kessleri* nos quatro tratamentos (T30, T45, T60 e T80) no intervalo de tempo inicial, intermediário e final.

Forma nitrogenada (mg. L ⁻¹)	Tratamentos			
	T30	T45	T60	T80
N-NO_2^- dia 0	0,57 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,62 ± 0,04	0,58 ± 0,03
N-NO_2^- dia 14	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
N-NO_3^- dia 0	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
N-NO_3^- dia 5	0,95 ± 0,02	1,08 ± 0,48	0,58 ± 0,08	1,22 ± 0,24
N-NO_3^- dia 14	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Na Figura 9 está demonstrado a concentração de NTK inicial e final, assim como a eficiência de remoção deste. No dia 6 do cultivo da *P. kessleri*, o tratamento T30 apresentou uma remoção igual a 52%, enquanto T45, T60 e T80 foram de 28%, 37% e 39%. Deste modo, T30 apresentou diferença estatisticamente significativa entre T45, T60 e T80, já T45 diferiu estatisticamente de T30, T60 e T80, sendo este o menor percentual de remoção neste intervalo de tempo. No estudo de Singh et al. (2020) cultivando *C. pyrenoidosa* em lixiviado de excreta de frango diluído com meio sintético, foi obtido uma redução de 13,45% de NTK no 5º dia, demonstrando que em nosso estudo o percentual foi superior. Entretanto, no dia 10, a remoção para T30 foi igual a 64%, sendo inferior e diferente estatisticamente de T45, T60 e T80, onde a remoção foi de 82%, 75% e 83%, respectivamente.

Figura 9 – Concentração inicial e final de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) durante o cultivo no efluente do decantador (ED) e eficiência de remoção pela espécie *Parachlorella kessleri* nos tratamentos T30, T45, T60 e T80.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Ao final do cultivo, os tratamentos T45, T60 e T80 não diferiram estatisticamente entre si, mas apresentam diferença significativa para T30. A taxa de remoção de NTK para os tratamentos foram 55%, 87%, 83% e 79% para T30, T45, T60 e T80. Apesar de T45, T60 e T80 não ter diferido entre si, o T45 demonstrou melhor desempenho de remoção, pois a concentração foi menor que 20 mg. L⁻¹, limite estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2011). De acordo com os estudos para a espécie do gênero *Chlorella*, a remoção de nitrogênio amoniacal e total em efluente agroindustrial (indústria de frango, bovina e suíno) varia de 70% a 99% em um intervalo de 7 a 12 dias para assimilação deste nutriente (AKETO et al., 2020; CHEN et al., 2020a; CUI et al., 2020; KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; TAŞKAN, 2016), corroborando com os resultados deste ensaio experimental para os tratamentos T45, T60 e T80.

A microalga *Chlorella* é um gênero amplamente reconhecido por apresentar um ciclo de vida simples, alto potencial de crescimento e pela capacidade de assimilar rapidamente nutrientes presentes em águas residuais (LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022). A forma preferencial

é o amônio (NH_4^+) entre as fontes de nitrogênio inorgânico, pois sua absorção requer uma quantidade menor de energia (KUMAR; BERA, 2020).

Apesar da remoção ter sido relativamente satisfatório, o percentual de eficiência de remoção foi <99%, indicando que pode ter ocorrido um fator limitante para remoção não ter sido superior e/ou semelhante aos estudos já realizados para *Chlorella*. Uma possibilidade para este fato é a intensidade de luz que foi cultivada *Parachlorella kessleri*, segundo Deng et al. (2019) ao estudarem a o efeito da intensidade luminosa na influência da produção de biomassa para *P. kessleri* identificaram que o crescimento ideal foi obtido nas culturas com uma intensidade de luz de $90 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. Outra condição de cultivo que pode melhorar a taxa de crescimento e o processo de remoção de nutrientes é suplementando com a injeção de CO_2 (Liu et al., 2020b).

Em relação ao fósforo, este nutriente foi avaliado no efluente como ortofosfato (PO_4^{3-}), pois a composição inorgânica é considerada como a forma mais biodisponível de fósforo e a preferencial para assimilação pelas microalgas (GUPTA et al., 2016; MOHSENPOUR et al., 2021). Semelhante ao nitrogênio, a absorção de fósforo também é amplamente relatada para espécies de algas (KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; WANG et al., 2010). A concentração presente no efluente foi menor $5,45 \pm 0,28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e as taxas de remoção foram iguais a 41%, 25%, 51% e 51% para T30, T45, T60 e T80, respectivamente. Nas diversas pesquisa com as espécies *Chlorella vulgaris*, *Parachlorella kessleri*, *Chlorella sorokiniana* e *Chlorella pyrenoidosa* cultivadas em efluente de diferentes origens (frango, bovino, suíno e doméstico) as taxas de remoção para fósforo variam de 70 a 100% (AKETO et al., 2020; CUI et al., 2020; KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; MOHAN SINGH et al., 2020; WANG et al., 2021).

As menores taxas de remoção encontradas neste ensaio levantam a hipótese que o fósforo possa ter sido em partes precipitado, uma vez que, o pH médio do cultivo foi 8,2 e a concentração de alcalinidade do efluente foi elevada ($377,7 \pm 5,09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), conforme mostra na Tabela 3.

O fósforo contém duas vias, este pode ser absorvido de forma biológica pela microalga ou precipitar (POWELL et al., 2011). Larsdotter; Jansen; Dalhammar (2007) explicam que o fósforo pode precipitar em água residuais na presença de uma variedade de cátions, mas o cálcio (Ca) é o mais importante, formando fosfato de cálcio e calcita (CaCO_3) em valores de pH acima de 8. Deste modo, a taxa de precipitação é inversamente correlacionada com a concentração de carbonato. Outro agente que promove a precipitação é o elevado pH, sendo considerado valores acima de 8 (ARVIN, 1983; POWELL et al., 2011).

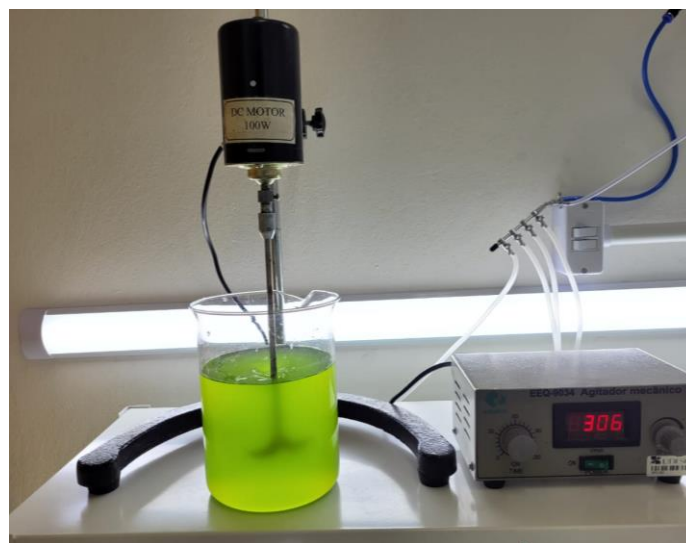
Para Demanda química de oxigênio (DQO) a concentração do efluente está descrita na Tabela 3, e no dia 2 após a espécie ter sido inoculada, a concentração variou entre 75 a 104 mg. L⁻¹, sendo que os menores valores (75 a 83 mg. L⁻¹) foram para os tratamentos T30, T45 e T60, e o maior valor para T80. Após os 14 dias de cultivo, a taxa de remoção foi de 39%, 34%, 41% e 36% para os respectivos tratamentos. No estudo de Azam et al. (2020) a taxa de remoção para DQO foi de 31,2% utilizando *Chlorella pyrenoidosa* em efluente de abatedouro de bovino, suíno e aves, demonstrando que a *P. kessleri* teve uma eficiência de remoção superior em todos os tratamentos. Já o estudo de Oliveira et al. (2019) se assemelha resultado obtido neste ensaio, pois alcançou a mesma concentração final de 52 mg. L⁻¹ que este estudo e uma remoção de 47% para efluente tratado de abatedouro de frango, mas com a espécie *Scenedesmus obliquus*.

Este ensaio comprova que a espécie *P. kessleri* absorveu os nutrientes presentes no efluente tratado para o seu crescimento, assim, diminuindo significativamente a concentração destes nutrientes, principalmente nitrogênio.

4.4.4 Ensaio Cinético

O ensaio cinético foi composto por 3 ciclos distintos em batelada e a espécie foi inoculada apenas no início do 1º ciclo e a Figura 10 mostra o sistema em batelada utilizado para o cultivo da espécie.

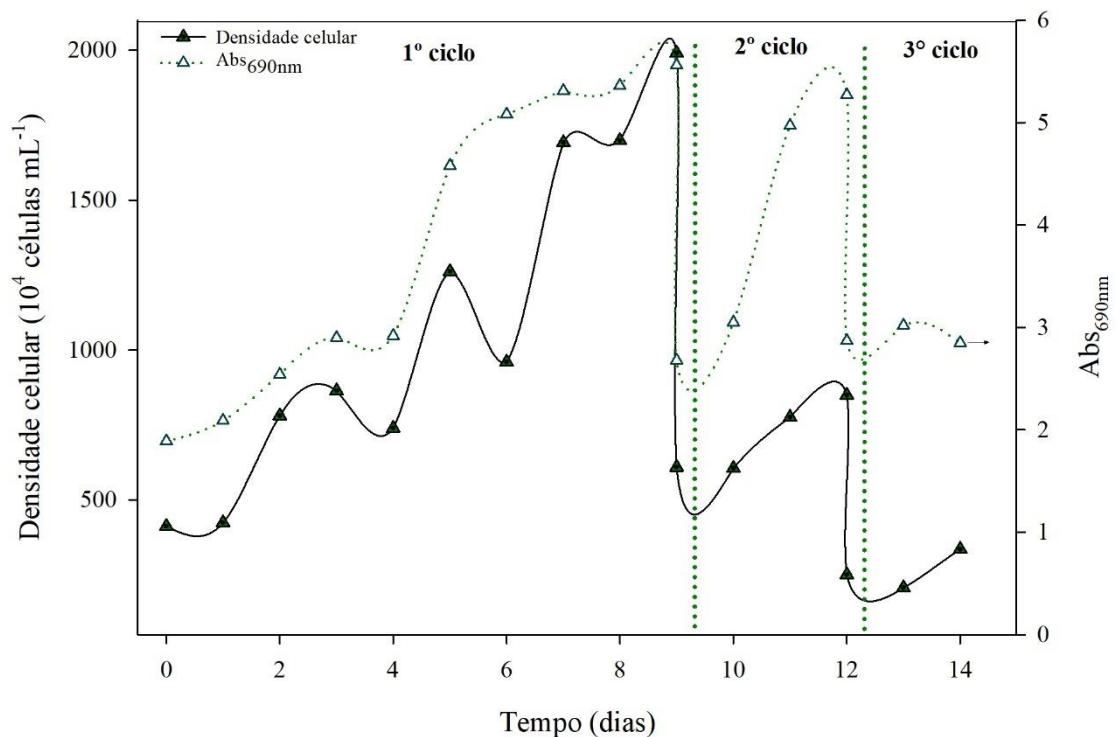
Figura 10 - Sistema em batelada para o cultivo da *P. kessleri*



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A Figura 11 demonstra o crescimento da espécie durante os 3 ciclos, onde no 1º ciclo a espécie atingiu a maior densidade ($1990 \times 10^4 \text{ cel.ml}^{-1}$) no 9º dia de cultivo, este resultado foi superior ao experimento anterior, onde o T45 atingiu um valor semelhante no 11º, estes resultados comprovam que neste estudo a espécie *P. kessleri* teve o maior crescimento entre o 9º e 10º dia de cultivo. O comportamento no 2º ciclo se assemelha ao 1º ciclo, onde a *P. kessleri* atingiu o número de $863 \times 10^4 \text{ cel.ml}^{-1}$ no 3º dia e durante este ciclo, o maior crescimento foi no final do ciclo com $848 \times 10^4 \text{ cel.ml}^{-1}$.

Figura 11 - Variação da densidade celular (cél. mL^{-1}) do cultivo da espécie *Parachlorella kessleri* cultivada no efluente do decantador (ED) ao longo dos dias durante os 3 ciclos.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

No 3º e último ciclo, o número de células foi igual a $335 \times 10^4 \text{ cel.ml}^{-1}$ no final do ciclo, demonstrando um declínio no crescimento da espécie, condicionando a curva para fase estacionária. Este comportamento da espécie *P. kessleri* pode ser explicado pelo fator de diluição realizado no 3º ciclo ao inserir o efluente e não ser realizada a renovação da cepa. A taxa de crescimento específico média para os 3 ciclos foi igual a $0,15 \pm 0,03 \text{ d}^{-1}$ com um tempo

de duplicação de $4,3 \pm 0,55 \text{ d}^{-1}$, apesar de ter atingido uma maior densidade celular em comparação ao experimento anterior, os resultados deste se assemelham ao T80, resultando em uma baixa produtividade celular. Conforme estudos de Sharma; Parul; General (2019), estes obtiveram uma taxa de crescimento específico de $0,313 \pm 0,05 \text{ d}^{-1}$ para *Parachlorella kessleri* em cultivo autotrófico e meio sintético, este resultado comprova que o desempenho da espécie estudada foi inferior ao que é encontrado na literatura para esta microalga.

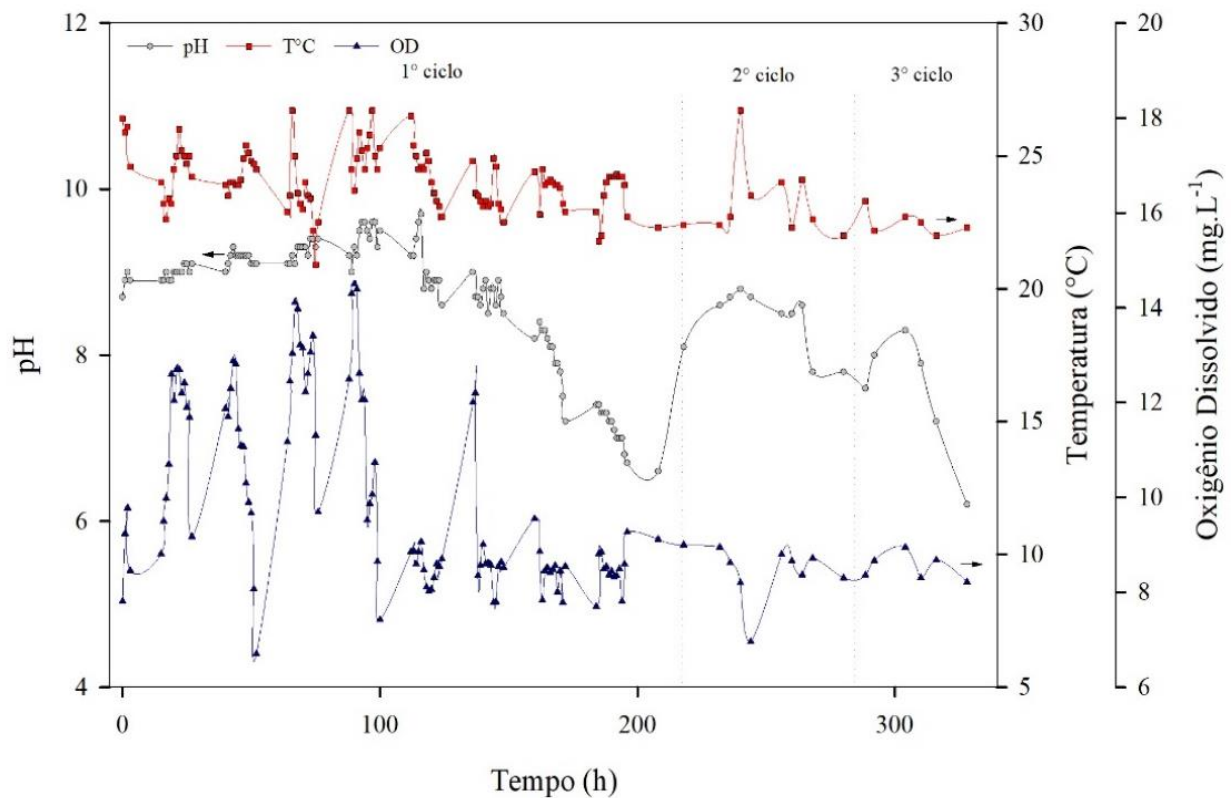
Deste modo, é possível concluir que neste estudo a espécie *P. kessleri* respondeu de forma eficiente até o 2º ciclo, e, para inclusão de novos ciclos em batelada é necessária uma nova reintrodução da cepa ao efluente, assim como, aumentar a produtividade celular.

4.4.4.1 Monitoramento de parâmetros físico-químicos

O cultivo de microalgas pode ser otimizado quando os parâmetros, como luz, temperatura, nutrientes, pH e oxigênio são controlados ou identificados (QIU et al., 2017). Entre os parâmetros citados, o pH é um fator que pode ser crítico no cultivo, pois determina a solubilidade e disponibilidade de CO_2 , nutrientes e influencia no metabolismo das microalgas (CHEN; DURBIN, 1994).

Conforme ilustrado na Figura 12, no primeiro ciclo o pH iniciou 8,7 e oscilou nesse valor até atingir 9,7, isto, no intervalo de 0 a 124h que corresponde ao 5º dia de cultivo. Concluído este período o pH diminuiu para 7 e ao final do ciclo estava em 6,6. No segundo ciclo, o pH se manteve constante na faixa de 8,0 a 8,8, contudo, no terceiro ciclo iniciou em 8 e diminuiu bruscamente para 6,2. O pH tem uma tendência a aumentar gradualmente durante o dia, devido à absorção de carbono inorgânico pela espécie de microalga (AZOV, 1982; QIU et al., 2017), e essas variações foram observadas ao longo do primeiro ciclo neste estudo.

Figura 12 - Variação dos parâmetros de pH, temperatura e oxigênio dissolvido durante o cultivo da espécie *Parachlorella kessleri* nos 3 ciclos, onde o ciclo 1 contempla 208h, o ciclo 2 – 72h e o ciclo 3 – 48h.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Nos 3 ciclos de cultivo, o pH se manteve majoritariamente acima de 8,0 e teve oscilações importantes no período até 150h com variação dos valores de 9,6 à 8,5, e conforme se aproximou do final do ciclo, a tendência do pH foi abaixar até neutralidade (pH=7) e acidificou (pH=6,6) no final.

No segundo ciclo, a oscilação do pH variou de 8,1 à 7,8, já no terceiro ciclo, o pH inicial foi de 7,6 e ao final teve um declínio para 6,2. Correlacionando o pH com o crescimento celular da microalga, pode se observar que o crescimento da *P. kessleri* aumentou conforme o pH se aproximou da neutralidade. Conforme estudos da literatura a faixa de pH ótimo para o gênero *Chlorella* é de 7,0 (AKETO et al., 2020; CUI et al., 2020; LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022; TERÁN HILARES et al., 2021b; WANG et al., 2021). O controle do pH é extremamente importante no cultivo e os métodos utilizados são inclusão de CO₂ ou adição de tampão ao meio de cultura. Neste estudo, o efluente utilizado para o cultivo da *P. kessleri* constituía elevada alcalinidade ($659,2 \pm 5,37 \text{ mg. L}^{-1}$), deste modo, formando um sistema tamponado na forma de CaCO₃ e controlando a variação do pH, se tornando benéfico para o crescimento da espécie pesquisada (BOROWITZKA, 2013). Além disso, as microalgas com crescimento autotrófico, como a *P. kessleri*, consomem dióxido de carbono (CO₂) e produzem oxigênio (O₂) (KAZBAR

et al., 2019). O dióxido de carbono é a principal fonte de carbono utilizada pela microalga do gênero *Chlorella* para a realização da fotossíntese, principalmente na forma de CO₂ (HENRY, 2004).

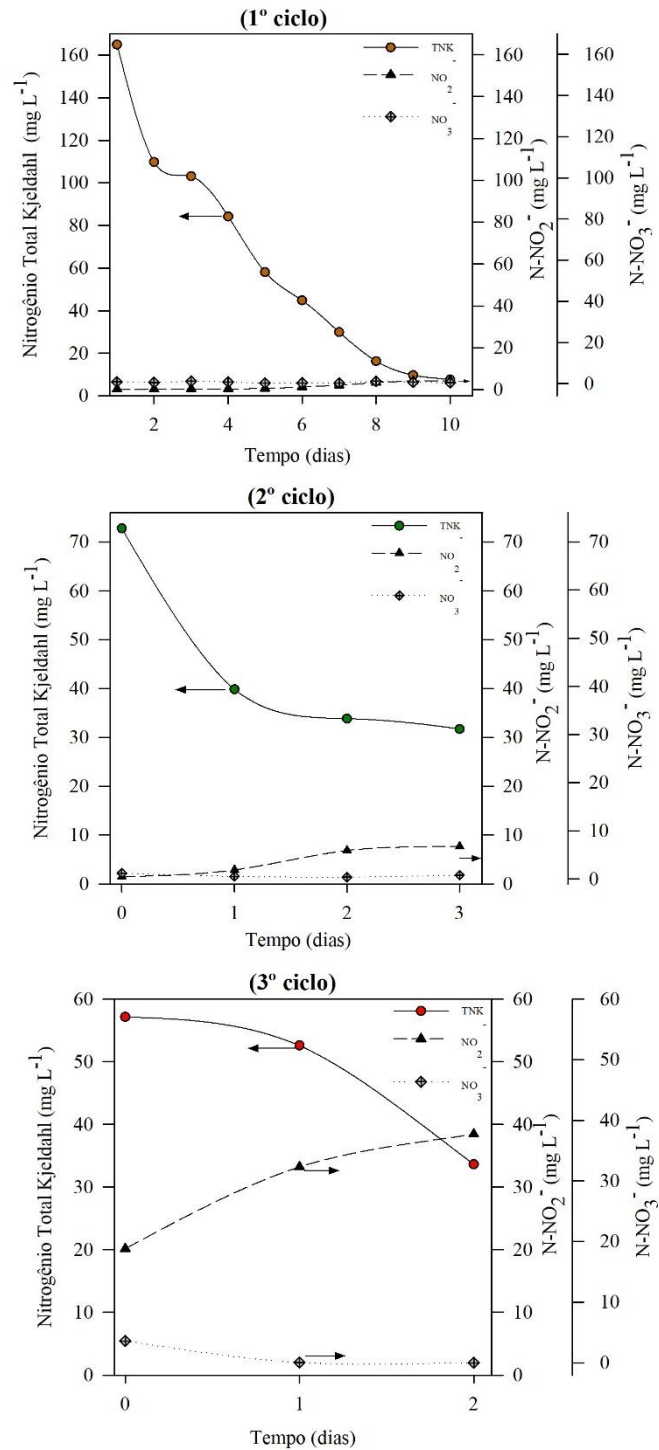
O oxigênio dissolvido neste estudo variou de 8,5 a 14,5 mg. L⁻¹ no intervalo de tempo de 0 a 4 dias (1º ciclo), e durante a fase luminosa, onde é realizada a fotossíntese, as concentrações foram acima de 10 mg. L⁻¹, conforme a figura 4. Após este período e se estendendo aos demais ciclos, a concentração estabilizou na concentração de 8,5 mg. L⁻¹. De acordo com Kazbar et al. (2019), a espécie *Chlorella vulgaris* cultivada em sistema de fotobiorreator e meio sintético obteve o melhor desempenho no crescimento entre 8,25 e 15,7 g.m⁻³ de oxigênio dissolvido, corroborando com os resultados apresentados neste estudo.

A temperatura de cultivo é um parâmetro extremamente importante para um rápido crescimento celular da microalga, e este é interligado ao pH e ao oxigênio dissolvido. Cada espécie contém uma faixa de temperatura ótima para seu desenvolvimento (HENRY, 2004). Durante os 3 ciclos a temperatura variou de 22 a 26°C, quando acima de 24°C o crescimento celular foi superior, isto, ocorreu durante o 1º ciclo e início do 2º ciclo, posteriormente a temperatura regularizou na faixa de 22°C. Outros estudos utilizando espécie do gênero *Chlorella* estabeleceram a melhor temperatura de cultivo no intervalo de 25 a 28°C (AKETO et al., 2020; CUI et al., 2020; GAO et al., 2019; JESUS et al., 2021; KATIRCIOĞLU SINMAZ; ERDEN; ŞENGİL, 2022; KAZBAR et al., 2019; O'ROURKE; GAFFNEY; MURPHY, 2016).

4.4.4.2 Remoção de nitrogênio e fósforo

O ensaio cinético teve como objetivo verificar o tempo de contato (TC) necessário para *P. kessleri* remover um volume superior a 50% do efluente de termo processamento de carne de frango em um sistema de batelada composto por 3 ciclos com tempos distintos. A Figura 13 demonstra a remoção de todas as formas nitrogenadas (NTK, N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻) nos 3 ciclos.

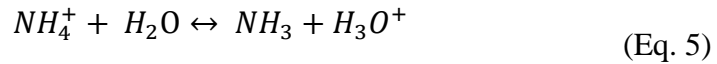
Figura 13 - Variação das formas nitrogenadas (NTK e N-NO₂⁻, N-NO₃⁻) durante o cultivo da espécie *Parachlorella kessleri*, onde 1 representa o primeiro ciclo com 208h, 2 o segundo ciclo com 72h e 3 o terceiro ciclo com 48h.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O 1º ciclo teve um tempo de contato de 10 dias composto por 208h, durante este ciclo a *P. kessleri* removeu 65% de NTK com TC de 4 dias com pH acima de 9,0 e temperatura de

25°C, resultando em uma concentração final de $58,1 \pm 6,78 \text{ mg. L}^{-1}$. De acordo com as condições ambientais que o cultivo se encontrava, pode se afirmar que neste período foram removidos nitrogênio na forma de amônia livre (NH_3), uma vez que, a formação de amônia livre é realizada pela equação (5) quando o $\text{pH} > 9,25$ a 25°C e quando o $\text{pH} < 9,25$ a forma dominante é NH_4^+ (WANG et al., 2019).



No entanto, no TC de 7 dias a remoção foi igual a 90% ($\text{NTK} = 16,3 \pm 1,16 \text{ mg. L}^{-1}$) e a forma dominante foi o NH_4^+ , devido ao $\text{pH} < 9$, ao final do ciclo a remoção foi de 95% ($\text{NTK} = 7,67 \pm 1,82 \text{ mg. L}^{-1}$). Para as formas de nitrogênio de N-NO_2^- e N-NO_3^- as concentrações foram insignificantes quando comparado com NTK. Resultados semelhantes à taxa de remoção de nitrogênio deste estudo foram encontrados para espécie *Chlorella vulgaris*, que removeu 96% de efluente de suinocultura, e em outro trabalho a mesma espécie em efluente avícola foi capaz de remover 100% de nitrogênio (VIEGAS; GOUVEIA; GONÇALVES, 2021; WANG et al., 2021).

No 2º ciclo, o TC foi de 3 dias com uma remoção de nitrogênio igual a 56% ($[\text{N}] = 31,7 \pm 1,34 \text{ mg. L}^{-1}$), comportamento semelhante ao 1º ciclo, onde a remoção neste intervalo de tempo foi de 49%, mas a forma dominante de nitrogênio neste e no 3º ciclo foi NH_4^+ . Já no 3º ciclo, o TC foi de 2 dias e obteve uma remoção de 41% ($\text{NTK} = 33,64 \pm 3,85 \text{ mg. L}^{-1}$), corroborando com o percentual do 1º ciclo com TC de 2 dias. Contudo, no 3º ciclo, houve acúmulo de nitrogênio na forma de nitrito (N-NO_2^-), de acordo com Soroosh; Otterpohl; Hanelt (2022) o acúmulo de nitrito está associado a efeitos inibitórios na absorção de nitrogênio pelas algas, sendo assim, o nitrito intracelular acumulado induz efeitos inibitórios na taxa de crescimento e fotossíntese de microalgas.

A assimilação do nitrato pelas microalgas ocorre através da oxidação deste à nitrito, este processo de nitrificação foi ocorrente durante as 3 bateladas do cultivo. O estudo de González-camejo et al. (2020) confirmou que à medida que a remoção de nitrogênio pelas microalgas diminuía as concentrações de N-NO_2^- aumentava e se acumulava no meio e variou de 5,10 e 20 mg. L^{-1} . Neste estudo, o nitrito acumulou no último ciclo para uma concentração de 38,4 mg. L^{-1} . Este resultado explica o declínio no crescimento celular da *P. kessleri* durante o 3º ciclo, ainda demonstra que o cultivo em batelada com 3 ciclos nestes intervalos de tempo não foi eficiente para a espécie estudada.

O fósforo durante o 1° e o 2° ciclo foi acumulado pela espécie no meio, neste caso, uma possível explicação é que as microalgas utilizaram a energia para assimilação do nitrogênio que estava em excesso e como para absorção de fósforo é necessário energia, este fator pode ter impossibilitado a assimilação (WU et al., 2021). No entanto, no 3° ciclo, ocorreu remoção de 54% de fósforo, este resultado demonstra que a espécie de *P. kessleri* foi capaz de remover fósforo em um intervalo de tempo de 15 dias, totalizando o tempo dos 3 ciclos.

4.5 CONCLUSÃO

A microalga *P. kessleri* demonstrou ótimo desempenho de crescimento e remoção de nutrientes em efluente terciário de termo processamento de carne de frango. No primeiro experimento a espécie teve um melhor crescimento celular nos tratamentos com menor quantidade de inóculo inserida (T30 e T45) e em relação a remoção de nitrogênio, esta foi capaz de assimilar 87% para T45. Ainda, foi capaz de remover 50% de fósforo presente no efluente.

O ensaio cinético demonstrou de maneira mais eficaz a remoção de nutrientes, onde a espécie *P. kessleri* removeu 95% de nitrogênio em um intervalo de tempo de 9 dias e 54% de fósforo. Ademais, é possível concluir que os ciclos deveriam ter um intervalo de tempo menor, pois no 3° ciclo houve um declínio no crescimento celular.

De modo geral, o efluente do ponto de coleta do decantador (saída do processo biológico) de termo processamento de carne de frango é adequado para o crescimento da microalga *P. kessleri* e removeu de forma eficiente o nitrogênio que estava em excesso neste efluente industrial.

5 ETAPA 2: CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA RESIDUAL GERADA PELO TRATAMENTO DE EFLUENTE DE TERMO PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO COM A MICROALGA *Parachlorella kessleri*

5.1 RESUMO

A tecnologia a base do cultivo de microalgas para tratamento de efluentes é um processo promissor e que vem ganhando grande repercussão e estudos mundialmente. O uso de microalgas proporciona uma recuperação de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e gera biomassa residual com grande potencial para aplicação biotecnológica, como, biofertilizante, biogás, biocombustíveis, entre outros. Deste modo, este estudo tem o objetivo de caracterizar a

biomassa da microalga *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente terciário de processamento de frango. O estudo avaliou a composição da biomassa gerada após o processo de tratamento em termos de teor de proteína, matéria orgânica, teor de cinzas, composição de metais e minerais e composição enzimática (Lipase, Protease alcalina total e α -amilase). Os resultados obtidos mostraram que a espécie *P. kessleri* teve 29% de proteína, 9 a 13% de cinzas, 42 a 52% de matéria orgânica. Para os metais (Cu, Cd, Pb, Cr, Mo, Ni, Fe, Mn, P e Al) a microalga removeu de 10 a 100% da concentração inicial para a final dos tratamentos, com exceção para Zn e Mg, estes foram bioacumulados pela espécie. Os minerais Ca, Na e K obtiveram a maior bioacumulação de 34%, 158% e 97%, respectivamente, adicionalmente a concentração inicial. Ademais, a espécie obteve respostas positivas para atividade enzimática de lipase e protease alcalina total na célula da espécie *P. kessleri*. A microalga *P. kessleri* demonstrou potencial para sua aplicação como um produto sustentável e se mostrou promissora para extração de enzimas importantes para aplicação biotecnológica e comercial.

Palavras-chave: Biomassa de microalga; Tratamento terciário; Efluente de processamento de frango; *Parachlorella kessleri*.

5.2 INTRODUÇÃO

As microalgas são microrganismos promissores para a recuperação de nutrientes em tratamentos de efluentes. As microalgas assimilam nitrogênio e fósforo, principalmente, e os resíduos gerados no final do tratamento, proporcionando uma valorização na biomassa. (CHEN et al., 2020b; KUMAR et al., 2022). A tecnologia que integra o cultivo de microalgas para tratamentos de efluentes tem se mostrado eficaz para diferentes fontes de efluentes, como o municipal, indústrias ou agrícola (FERREIRA et al., 2018). Os resíduos gerados nas indústrias alimentícias têm aumentado cada vez mais, isto, devido ao grande crescimento populacional e na produção de alimentos, por exemplo, a carne de frango (TERÁN HILARES et al., 2021a).

Desta forma, os métodos convencionais de tratamento de efluentes tem se tornado ineficazes quando se refere a um resíduo com uma elevada carga orgânica e apresenta complexidade na remoção de nutrientes. Neste caso, são necessários métodos avançados para o tratamento completo, contudo, estes têm um custo elevado de implementação e operação (BHATT et al., 2022a; MOHSENPOUR et al., 2021). A tecnologia a base de microalgas tem se tornado uma alternativa promissora para a substituição desses processos, devido a capacidade de recuperação de nutrientes que estes microrganismos constituem. O tratamento de efluentes a base de microalgas pode ser implementado como como um processo terciário e ainda oferece

perspectivas de valorização para a biomassa residual gerada (ARIAS et al., 2018; LIU et al., 2022).

O reaproveitamento da biomassa residual originada do processo de tratamento está inserido na bioeconomia circular, sendo essa definida por ser uma concepção emergente que converte o uso de recursos renováveis em produtos de valor agregado (BHATT et al., 2022b).

A biomassa obtida a partir de microalgas após a remediação de efluentes pode ser utilizada para produção de produtos bioprospectivos importantes comercialmente, como, pigmentos, biocombustíveis, biofertilizantes, biopolímeros e aditivos nutricionais. Para identificar a aplicabilidade da biomassa, análises para obtenção do teor de proteína, cinzas, matéria orgânica, metais e minerais são necessários (CHEW et al., 2017; PULZ; GROSS, 2004; RIZWAN et al., 2018). Recentemente os estudos tem identificado que a degradação termogravimétrica é um método promissor para obtenção da composição de matéria orgânica, volátil e cinzas presente na biomassa. Este processo é uma técnica para de perda de massa através da elevação da temperatura (AZIZI; KESHAVARZ MORAVEJI; ABEDINI NAJAFABADI, 2017; RIZZO et al., 2013; SOARES; MARTINS; GONÇALVES, 2020).

Ainda, devido ao acúmulo de proteína, lipídios e açúcares no metabolismo da espécie de microalga, essas propriedades a tornam uma candidata atraente para produção de compostos enzimáticos de alto valor agregado para o mercado mundial. Atualmente, as principais fontes para obtenção de enzimas é a partir de microrganismos como bactérias e fungos (HASHIRO et al., 2018; RAMAKRISHNAN et al., 2016; SHAIKH et al., 2020).

A novidade deste estudo consiste na determinação da composição da biomassa de *P. kessleri* cultivada em efluente de termo processamento de carne de frango para degradação termogravimétrica da matéria orgânica e a identificação de enzimas como a Lipase, Protease Alcalina Total e Alfa-amilase. Portanto, o presente estudo tem como objetivo caracterizar a biomassa da microalga *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente terciário de termo processamento de carne de frango.

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

5.3.1 Condições de cultivo da microalga no efluente

O ensaio experimental foi realizado em quatro volumes diferentes de inóculo com o efluente terciário da indústria de processamento de frango, todos em triplicata, totalizando 12 unidades experimentais. Os volumes de inóculos foram, T30 (30 mL), T45 (45 mL), T60 (60

mL e T80 (80 mL).

A microalga *Parachlorella kessleri* foi cultivada em frascos erlenmeyer com volume de 1000 mL contendo 800 mL do efluente (ED), com aeração constante, iluminação artificial por lâmpadas brancas LED com intensidade de $46 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ e um ciclo claro/escuro de 12/12 h.

Para os parâmetros de crescimento foi estimado a densidade celular a cada 24 horas, utilizando hemocítmetro para contagem celular, para complementar foi estimado a densidade óptica ($\text{OD}_{680\text{nm}}$) com determinação da absorbância por espectrofotometria (Prove 100, Merck®). Os valores de pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram mensurados diariamente. A produtividade em biomassa seca foi determinada conforme metodologia de Arredondo et al. (2007) e Silkina et al. (2015), utilizando a equação 1 para obtenção da concentração em $\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$.

$$P_b \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{X_{\text{max}} - X_0}{V_f} \quad (\text{Eq. 1})$$

Quando X_{max} é o peso da amostra seca + filtro e X_0 é o peso do filtro seco e o V_f é o volume de amostra filtrada.

Para determinação da remoção de nutrientes durante os 14 dias de cultivo foram realizadas análises de nitrogênio total Kjeldhal (NTK), nitrito, nitrato, fósforo e DQO, conforme os procedimentos descritos no “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*” 21ª edição (APHA, 2005).

5.3.2 Obtenção da biomassa residual pelo tratamento do efluente de processamento de frango

A biomassa residual foi gerada a partir do ensaio experimental descrito anteriormente. No início do experimento foi coletado o volume de 100 mL do inóculo e este foi centrifugado por 15 minutos a 4000 rpm. A biomassa foi seca em estufa a 60°C pelo período de 24h conforme metodologia descrita por (CHRIS DE VISSERF, 2015).

Ao final do experimento foi utilizado o volume de 800 mL de cada tratamento e adicionado 300 mg.L^{-1} do tanino SG (Tanac®, Brasil) para separação da biomassa. Para a coagulação/floculação, as amostras foram agitadas manualmente sem o uso de gradiente de velocidade otimizado e a biomassa foi separada por sedimentação. Posteriormente, a biomassa foi seca conforme descrito anteriormente.

5.3.3 Determinação de Proteína

A caracterização bromatológica da biomassa residual algal foi realizada de acordo com a metodologia estabelecida pela “*Association of Official Analytical Chemists*” (AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS), 1995). A biomassa foi seca em estufa à 60°C pelo período de 24h para realização de todas as análises.

A determinação de proteína bruta foi executada pelo método Kjeldahl 4500-N_{org}, para as amostras correspondente ao dia 1 (inicial) foi pesado 15 mg da biomassa e para o dia 14 (final) foi pesado 50 mg. A biomassa foi digerida em bloco digestor (Tecnal, modelo TE-007 MP) e destilador de nitrogênio (Tecnal, modelo TE-0364), o cálculo para determinação de proteína bruta está descrito na equação 6 (APHA, 2005). O fator de conversão usado foi descrito por GEADA et al. (2021).

$$\% \text{Proteína Bruta} = \left[\frac{(\text{volume utilizado} - \text{média branco}) * 14 * 0,01}{\text{Peso amostra (mg)}} * 100 \right] * 4,78 \quad (\text{Eq. 6})$$

5.3.4 Análise termogravimétrica

Para determinação termogravimétrica e calorimetria diferencial, as amostras da biomassa proveniente do ensaio 2, foram previamente secas em estufa à 60°C por 24h e conduzidas ao equipamento *TA Instruments*, modelo *Discovery SDT 650*. A temperatura foi elevada de 25°C para 1300°C com taxa de aquecimento de 10°C/min, sob atmosfera de ar sintético (80 mL/min). Os dados de TGA foram transformados em termogravimétrica derivada (DTG) calculando a primeira derivada da perda de massa em função da temperatura.

5.3.5 Análise de metais

Para determinação de metais presentes na biomassa da microalga *P. kessleri* foram utilizadas amostra do inóculo representando o início e amostra final de cada tratamento do experimento. A biomassa foi seca em estufa à 60°C por 24h e pesado 15 mg de inóculo e 50 mg das amostras de cada tratamento (T30, T45, T60 e T80). As amostras foram digeridas em uma solução 1:1 (v/v) de ácido nítrico (HNO₃) à 95 ± 5°C por 10 minutos, e na sequência foram adicionados 5 mL de ácido nítrico (HNO₃) P.A. mantendo as amostras na mesma condição de temperatura por 30 minutos. Ao final as amostras foram diluídas em um volume de 25 mL.

Para determinação dos compostos minerais e íons metálicos (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Al, Cd, P, Pb, Cr, Mo, Ni, Sn, Na e K) foi utilizado a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).

5.3.6 Análise enzimática

Para obtenção do extrato enzimático foi realizado o cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em Erlenmeyer contendo 600 mL de efluente tratado de processamento de frango e 200 mL de inóculo da microalga. A coleta da amostra foi realizada a cada dois dias, totalizando seis extrações intracelulares e seis amostras brutas para análise extracelular.

A extração enzimática foi de acordo com a metodologia obtida por Safi et al. (2015) e Skorupskaite et al. (2019). Para execução da extração intracelular foi congelado 15 mL da amostra a 18°C pelo período de 3 dias, posteriormente, foi acondicionado a amostra em banho ultrassônico (marca Elma) com temperatura constante de 25°C e tempo de 5s de banho e 15s de tempo de descanso para evitar superaquecimento da amostra, o procedimento foi repetido até completar 30 min. Após a extração, a amostra foi centrifugada a 4000 rpm por 10 min e o extrato enzimático foi armazenado e congelado. Para extração extracelular, foi acondicionado o mesmo volume de amostra em tubo falcon e centrifugado a 4000 rpm por 10 min e analisado na sequência.

A determinação da atividade enzimática foi realizada para Lipase (EC 3.1.1.3), Protease alcalina total (EC 3.4.21-24) e α -amilase (EC 3.2.1.1) e o resultado expressado de forma qualitativa, indicando ausência ou presença de atividade enzimática para enzimas produzidas pela microalga *P. kessleri*.

Lipases

A medida de atividade para lipase foi no comprimento de onda $\lambda = 410$ nm utilizando *p*-nitrofenil laurato (3 mmol.L⁻¹) em propanol como substrato e a reação foi encerrada pela adição de acetona. Uma unidade de atividade da lipase (U) representa a quantidade de enzima necessária para a hidrólise de 1 μ mol de *p*-nitrofenil laurato em 20 min a 25 °C por mL de extrato enzimático (BRABCOVÁ et al., 2013; PASTORE; COSTA; KOBLITZ, 2003).

Protease alcalina

A medida de atividade para protease alcalina total foi determinada após 30 min de incubação do extrato enzimático a 25°C usando a solução de caseína a 2% (p/v) em tampão

Tris-HCl 50 mM (pH 8,0) como substrato. A reação foi encerrada com ácido tricloroacético (TCA) a 20% (p/v) e o extrato foi centrifugado por 20 min a 5000 rpm, em sequência foi executado a leitura do sobrenadante no comprimento de onda $\lambda = 340$ nm. Uma unidade de atividade da protease (U/mL) foi determinada como 1 μ mol de tirosina por minuto do extrato bruto.

Alfa-amilase

A medida de atividade para α -amilase foi determinada após 30 min de incubação do extrato enzimático a 37°C utilizando a solução de amido solúvel (3g/L) em tampão fosfato de dibásico de sódio (Na_2HPO_4) a pH 7,4 como substrato. O tempo de reação foi encerrado com a solução de iodo 0,33 mM. Em sequência a amostra foi agitada rapidamente em agitador tipo *vórtex* e realizado a leitura no comprimento de onda $\lambda = 605$ nm. Uma unidade de atividade da α -amilase (U) representa a hidrólise de 1 mg de amido em 30 min a 37°C por mL de extrato enzimático.

5.3.7 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e foi aplicado ANOVA fator único e teste de Tukey com $p < 0,05$, com auxílio do *software Statistica* versão 10. Os gráficos foram plotados com auxílio do *software SigmaPlot* 14.5.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1 Obtenção e composição da biomassa residual

A composição da biomassa da microalga *P. kessleri* foi obtida a partir da quantificação do teor de proteína sendo essa uma determinação bromatológica, TGA (termogravimétrica) e Metal referente a amostra inicial do inóculo e final do ensaio experimental. Os parâmetros mensurados, como, pH, temperatura e oxigênio dissolvido, obtiveram média igual a $8,2 \pm 1$, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ e $5,5 \pm 1$ mg. L^{-1} para os quatro tratamentos. Os resultados obtidos para a determinação dos nutrientes e produtividade de biomassa iniciais e finais estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 - Análise de nutrientes e da produtividade de biomassa

Parâmetros	Unidade	Tratamentos							
		T30	T45	T60	T80	T30	T45	T60	T80
		Inicial				Final			
Produtividade de biomassa	g.L ⁻¹ .d ⁻¹	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,33 ± 0,09	0,35 ± 0,09	0,30 ± 0,05	0,24 ± 0,06
NTK	mg.L ⁻¹	137 ± 10	136 ± 10	140 ± 6	132 ± 10	62 ± 8	17 ± 5	23 ± 1	28 ± 3
N-NO₂⁻	mg.L ⁻¹	0,57 ± 0,02	0,57 ± 0,02	0,62 ± 0,04	0,58 ± 0,03	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
N-NO₃⁻	mg.L ⁻¹	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5
PO₄³⁻	mg.L ⁻¹	2,36 ± 0,84	2,62 ± 1,58	4,29 ± 0,68	2,99 ± 2,06	1,39 ± 0,05	2,84 ± 0,43	2,09 ± 0,46	1,90 ± 1,04
DQO	mg.L ⁻¹	80,96 ± 1,77	79,65 ± 8,49	90,93 ± 8,50	83,19 ± 1,18	<50	55,05 ± 3,74	53,22 ± 1,92	60,34 ± 10,62

O rendimento de biomassa seca total no início do experimento foi de 0,15 g.L⁻¹ e ao final 0,06 g.L⁻¹, estes valores correspondem ao peso seco do agrupamento de todos os tratamentos. DENG et al. (2019) cultivou a microalga *Chlorella kessleri* em várias intensidades de luz e obtiveram que em 90 µmol.m².s⁻¹ teve um melhor rendimento de biomassa igual a 0,50 g.L⁻¹. QU et al. (2019) obtiveram uma produtividade de biomassa igual a 1,15 g.L⁻¹.d⁻¹ cultivando *Parachlorella kessleri* em 600 µmol. Mohan et al. (2020) obteve um rendimento de biomassa de 2,52 g.L⁻¹ para a espécie *Chlorella pyrenoidosa* cultivada com uma intensidade luminosa de 700 lux.m⁻² no efluente de lixiviado de frango. A intensidade de luz utilizada neste estudo foi de 46 µmol.m².s⁻¹ ficando abaixo do encontrado nos estudos acima.

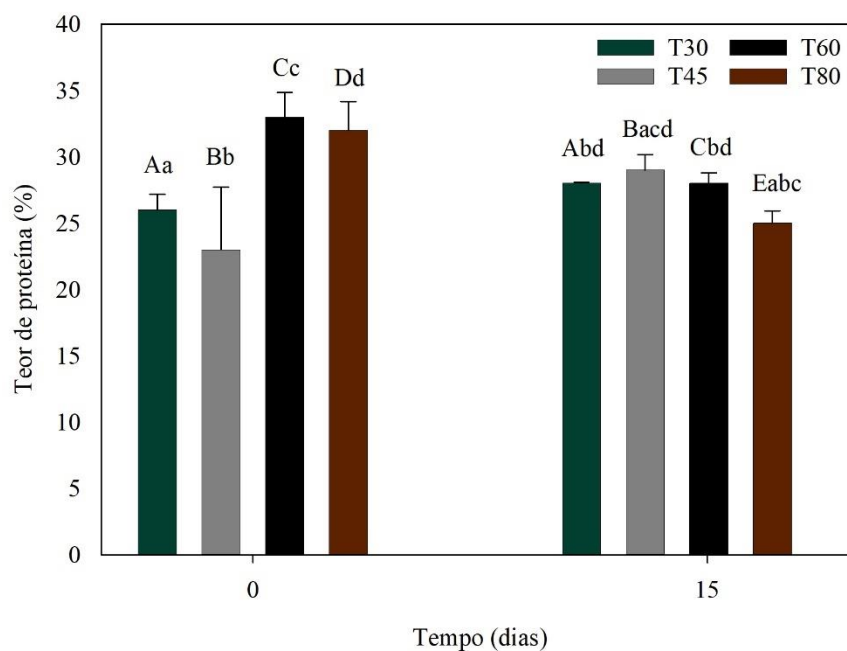
O rendimento e a produtividade de biomassa obtidos neste trabalho foram baixos e o fator que pode ter influenciado no resultado é a intensidade luminosa usada. A intensidade de luz é o parâmetro mais importante no cultivo de microalgas, pois este interfere no metabolismo fotossintético da espécie. Quando a saturação de luz está abaixo do ideal afeta negativamente o crescimento celular, especialmente microalgas autotróficas como a *P. kessleri* (LÓPEZ-SÁNCHEZ et al., 2022a).

5.4.2 Proteína

O efluente com origem do processamento de frango é composto por uma variedade de compostos orgânicos e nitrogenados, especificamente o deste trabalho constitui uma concentração elevada de nitrogênio, principalmente em amônia. A *Parachlorella kessleri* tem um papel fundamental na assimilação deste nitrogênio e o acumula como proteína.

O teor de proteína no início e final do cultivo estão expostos na Figura 14, demonstrando que o teor de proteína no início do cultivo teve valores inferiores para T30 e T45 comparado com T60 e T80. Este resultado é explicado pela diferente proporção no volume de inóculo em cada tratamento e o teor de proteína inicial está correlacionado com a proteína do inóculo de *P. kessleri*, onde o valor é de 31%, e também, pela adição do coagulante a base de tanino e dosagem usada.

Figura 14 - Quantificação do teor de proteína inicial e final referente ao ensaio experimental



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Conforme o trabalho de You et al. (2022) houve diminuição na concentração de proteína quando utilizou a dosagem de 4 a 20 mg/L do coagulante tanino com adição de amido catiônico para separação da biomassa da microalga *Chlorella vulgaris*, apesar de não ser o mesmo tanino usado neste estudo, o resultado deste trabalho demonstrou a interferência negativa no teor de proteína com uma dosagem menor que a utilizada neste estudo. Ainda, no estudo de SOARES; MARTINS; GONÇALVES (2020) é comprovado que o polímero à base de tanino para separação de biomassa reduziu a composição da biomassa de microalgas cultivadas em efluente de esgoto doméstico.

No final do experimento, os resultados apontam que o tratamento T45 teve diferença significativa entre todos os outros tratamentos, enquanto o tratamento T30 teve diferença

significativa entre T45 e T80. Estes resultados corroboram com o maior acúmulo que estes tratamentos obtiveram em comparação a T80. Ainda, os resultados demonstram que o tratamento T80 teve diferença significativa quando comparado com a sua concentração no teor de proteína. Em contrapartida, o tratamento T60 mesmo que tenha diminuído o teor de proteína referente a amostra inicial e final, não teve diferença significativa.

O teor de proteína para a espécie do gênero *Chlorella* sp. cultivada em efluente de abatedouro de aves e de suinocultura variou de 41 a 46% (CHEN et al., 2020a; VIEGAS; GOUVEIA; GONÇALVES, 2021). No estudo de Sharma; Parul; General (2019) demonstrou que a espécie *Parachlorella kessleri* obteve 41% de proteína em sua biomassa quando cultivada em sistema autotrófico e meio sintético. Ao comparar estes resultados com os obtidos pelo presente estudo, mostra que apesar de ser obtido um melhor desempenho para o tratamento T45, ainda está abaixo do teor de proteína para espécie *P. kessleri*.

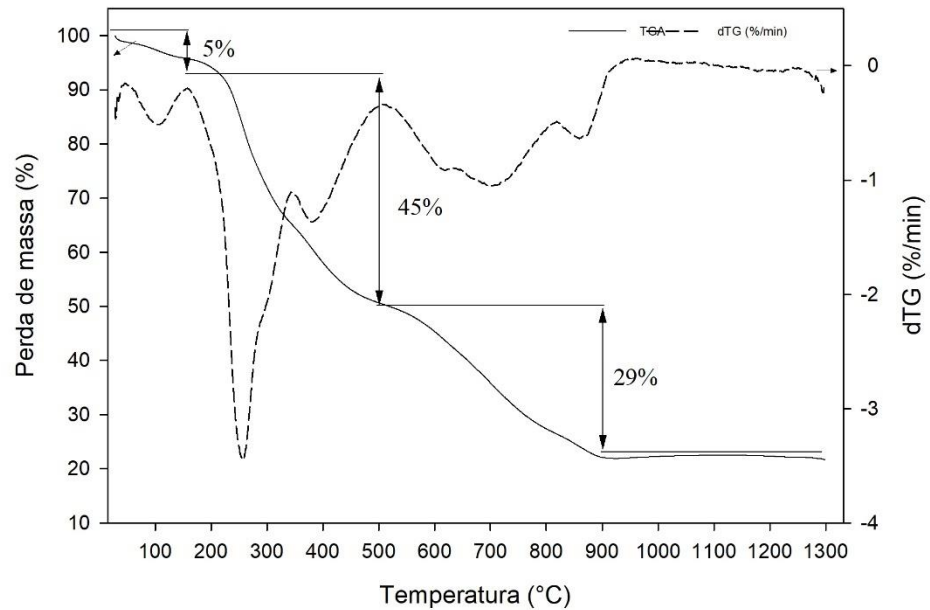
Entretanto, o tratamento T80 teve um menor acúmulo de proteína na biomassa, isto, pode estar relacionado ao desempenho na taxa de crescimento deste tratamento, que foi lento e o crescimento foi inibido. A proteína está relacionada com a taxa de crescimento, uma vez que, por ser composta por aminoácidos tem papel fundamental no desenvolvimento de qualquer célula de microalga (AZAM et al., 2020).

5.4.3 Análise termogravimétrica

A degradação térmica da biomassa de microalgas é possível obter a partir da análise termogravimétrica, nesta é identificado os pontos que ocorre a perda de massa da biomassa da microalga *P. kessleri* em função do aumento da temperatura. A perda de massa é determinada por estágios de degradação, sendo estes compostos pelo teor de umidade, matéria orgânica e compostos inorgânicos (AZIZI; KESHAVARZ MORAVEJI; ABEDINI NAJAFABADI, 2017; BACH; CHEN, 2017b; SOARES; MARTINS; GONÇALVES, 2020).

A Figura 15 mostra a curva de análise termogravimétrica para a biomassa da microalga *P. kessleri*, onde o inóculo referente a biomassa inicial e as biomassas geradas no final do ensaio experimental para cada tratamento (T30, T45, T60 e T80).

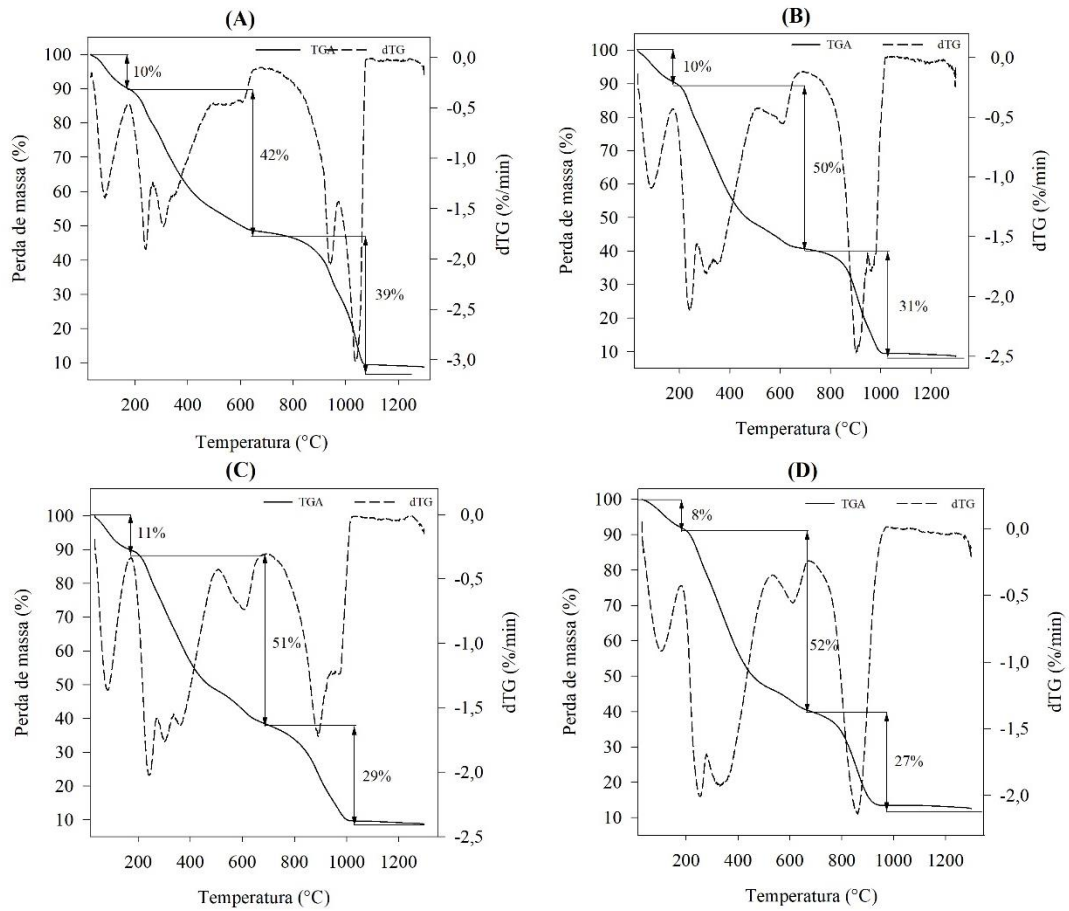
Figura 15 - Análise termogravimétrica para a biomassa obtida do inóculo de *P. kessleri* referente a amostra inicial



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

O primeiro estágio representa a perda de umidade e secagem da biomassa, é possível observar na Fig. 15 que este estágio foi de 28 – 150°C para o inóculo e 29 – 171°C para os demais tratamentos, conforme ilustra a Figura 16 (A-D).

Figura 16 - Análise termogravimétrica para a biomassa obtida dos quatro tratamentos, onde A – T30, B – T45, C – T60, D – T80, de *P. kessleri* referente ao final do tratamento.



Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A Tabela 7 ilustra os três estágios de degradação da biomassa na amostra inicial e quatro tratamentos. O segundo estágio para microalgas, varia de 200 a 600°C, este é o mais reativo e nesta fase todos os componentes da microalga, como carboidrato, proteína, lipídios e outros componentes menores são decompostos para produção de mineral e liberação de compostos orgânicos (RIZZO et al., 2013).

Tabela 7 - Estágios de degradação da biomassa da *P. kessleri*

	Tratamentos				
	Inóculo	T30	T45	T60	T80
1º estágio					
Temperatura (°C)	150	170	171	171	175
Perda de massa (%)	5	10	10	11	8
2º estágio					
Temperatura (°C)	503	645	685	680	670
Perda de massa (%)	45	42	50	51	52

	3º estágio				
Temperatura (°C)	943	1078	1021	1019	972
Perda de massa (%)	29	39	31	29	27

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Em conformidade com os resultados apresentados, todos os tratamentos se assemelham com a faixa de temperatura especificada por Rizzo et al. (2013). Entretanto, a geração de compostos orgânicos numericamente mais alta foi do tratamento T80 com 52% de perda de massa, seguido de T60 e T45 com 51% e 50%, respectivamente. Nestes tratamentos o período de degradação e geração desses compostos foi até 685°C.

O terceiro estágio representa a matéria carbonácea sólida e a fase que a perda de massa ocorre de forma mais rápida, ainda é nesta fase que o processo de desvolatilização é concluído, ao final de todo processo é possível obter o teor de cinzas presente na biomassa (AGRAWAL; CHAKRABORTY, 2013; RIZZO et al., 2013).

O processo do terceiro estágio demonstrou ser mais rápido para o tratamento T80 em comparação com os demais tratamentos. Na amostra do inóculo, T30, T45, T60 e T80 gerou ao final do processo um teor de cinzas de 22%, 9%, 9%,9% e 13%. Conforme o estudo de Bach; Chen, (2017a) este obteve a composição de 9% de cinzas para *Chlorella vulgaris*, corroborando com o encontrado para T30, T45 e T60. Ainda, SOARES; MARTINS; GONÇALVES (2020) ao utilizar o polímero tanino para separar a biomassa de microalgas cultivadas em esgoto doméstico teve um teor de 10,6% de cinzas, sendo semelhante aos valores dos tratamentos T30, T45 e T60 deste estudo.

5.4.4 Análise de metais

A biomassa de microalga gerada após o processo de tratamento de efluentes pode ser utilizada para aplicações biotecnológicas, como, para indústria de biofertilizante ou nutrição animal (RENUKA et al., 2020). Deste modo, a biomassa deve estar livre de contaminantes. A microalga tem dois mecanismos para inserção de elementos metálicos ou não em seu metabolismo, podendo ser por duas vias, a bioassimilação e bioacumulação, esta pode ser por método ativo ou passivo, para células vivas é considerado bioacumulação e quando a célula está na forma de biomassa é considerado bioadsorção (AL KETIFE; AL MOMANI; JUDD, 2020; FORRUQUE et al., 2022; SURESH KUMAR et al., 2015).

Estes compostos quando presentes no efluente na forma líquida e excedem o limite permitido pela legislação, como Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) do Brasil

ou Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA), são altamente tóxicos, carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos (BRASIL, 2011; LEONG; CHANG, 2020; U.S. EPA, 2009). Quando se trata de biomassa residual gerada a partir de processos de tratamento de efluentes, pode ser classificado como biosólidos e este deve atender os limites estabelecidos pela Resolução Conama nº 498 de 2020 (BRASIL, 2020).

Entretanto, o crescimento das algas é afetado pela composição de macronutrientes e micronutrientes no meio, sendo necessário ter estes elementos para um melhor desenvolvimento. Muitos metais são essenciais, como ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e zinco (Zn), estes são conhecidos como elementos traços e micronutrientes essenciais, ao contrário do alumínio (Al), cádmio (Cd) e chumbo (Pb) que são elementos tóxicos e não constituem função biológica para microalgas (JAIS et al., 2017). Os macronutrientes mais comuns são o nitrogênio, fósforo, cálcio, potássio, magnésio, cloreto, enxofre e sódio, estes não são tóxicos e podem ser adicionados em concentrações elevadas (FOX; ZIMBA, 2018; GOUR et al., 2018). Na Tabela 8 mostra as concentrações dos metais e minerais da biomassa do inóculo (inicial) e dos quatro tratamentos (final).

Tabela 8 - Análise de metais pesados e minerais obtidos da biomassa do inóculo e dos quatro tratamentos (T30, T45, T60 e T80) de *P. kessleri* referente ao final do tratamento.

Elementos (mg. Kg ⁻¹)	Tratamentos				
	Inóculo inicial	T30 _{final}	T45 _{final}	T60 _{final}	T80 _{final}
Ca	1950 ± 136	2618 ± 47	1935 ± 153	2184 ± 176	1629 ± 258
Mg	3205 ± 174	3506 ± 80	3360 ± 299	3885 ± 372	2838 ± 548
Fe	143 ± 11	84 ± 3	138,4 ± 47,3	81,9 ± 5,6	90,5 ± 3,9
Cu	125 ± 26	17 ± 5	n.d.	n.d.	n.d.
Zn	n.d.	6,9 ± 1,4	13,6 ± 2,9	5,3 ± 3,1	12,3 ± 2,9
Mn	58 ± 5	50 ± 2	31 ± 3,4	27,2 ± 3	27,9 ± 3,5
Al	4880 ± 101	2505 ± 52	2157 ± 252	2154 ± 108	2346 ± 95
Cd	n.d.	9,1 ± 1,4	n.d.	1,16 ± 0,27	n.d.
P	6645 ± 141	3220 ± 109	4158 ± 405	3318 ± 165	3854 ± 230
Pb	26 ± 18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cr	26 ± 2	6 ± 0,4	4,9 ± 0,8	4,4 ± 1,4	4,7 ± 1,3
Mo	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ni	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Sn	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Na	12255 ± 1604	31611 ± 1030	20717 ± 2000	25653 ± 2380	15725 ± 3270
K	13119 ± 1176	25806 ± 769	18294 ± 1721	21365 ± 1823	14345 ± 2990

Nota: n.d. não detectado. Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A microalga *P. kessleri* foi capaz de remover mais de 100% da concentração dos metais, sendo os elementos com maiores percentuais foi Pb, Cu e Cr. No entanto, para os elementos Cd e Zn houve bioacumulação da concentração inicial para final. Estes elementos são constatados na legislação Conama n° 498 de 2020 e todos estão dentro do limite estabelecido (BRASIL, 2020).

Existem micronutrientes que são essenciais para o crescimento da microalga, e estes desempenham um papel importante nas vias metabólicas das algas. Os elementos como Fe, Cu, Mn, Zn e Mo podem ser limitantes para o crescimento celular em baixas concentrações e tóxicos em altas concentrações (ABDELFATTAH et al., 2022; GOUR et al., 2018; SURESH KUMAR et al., 2015).

Conforme elucidada na Tabela 8, o Fe e Mn foram remediados pela *P. kessleri*, já para Mn teve ausência deste metal na biomassa (início e final). Para o grupo de macronutrientes (Ca, Mg, P, Na e K) houve um acréscimo de 34%, 158% e 97% na concentração do cálcio, sódio e potássio. Neste estudo o acréscimo desses macronutrientes pode ser considerado como bioacumulação e pode ter sido originado a partir do cultivo da espécie *P. kessleri* na água residual de processamento de frango. Contudo, a quantidade expressiva desses macronutrientes tem aspecto positivo, pois poderia ter aplicação como um biofertilizante, especialmente, fósforo e potássio, uma vez que, a demanda por esses elementos está alta e se busca na agricultura a substituição de fertilizantes químicos por produtos com menor impacto ambiental (RENUKA et al., 2020).

5.4.5 Análise enzimática

As enzimas são classificadas como proteínas específicas e seu modo de ação é por intermédio de um catalisador, que tem a função de acelerar a reação bioquímica. Entre as enzimas existentes na natureza, as pertencentes às classes das hidrolases, transferases e óxido-redutases são consideradas por ter um potencial para uso comercial. As enzimas com importância comercial para indústria alimentícia, têxtil, farmacêutica e tratamento de efluentes são amilases, proteases, pectinases, celulases, lipases e lactases (DIVAKAR, 2013).

A Tabela 9 mostra os resultados para ausência e presença das enzimas lipase, protease e α -amilase para a espécie da microalga *P. kessleri* ao longo dos 14 dias de cultivo.

Tabela 9 - Determinação qualitativa para atividade enzimática de lipase, protease e α -amilase das enzimas intracelular e extracelular de *P. kessleri*

ENZIMA LIPASE		
	Enzima extracelular	Enzima intracelular
Dia	Atividade enzimática	
0	Presença	Presença
2	Presença	Presença
5	Presença	Presença
7	Presença	Presença
9	Presença	Ausência
14	Ausência	Ausência
ENZIMA PROTEASE		
	Enzima extracelular	Enzima intracelular
Dia	Atividade enzimática	
0	Ausência	Presença
2	Ausência	Presença
5	Ausência	Presença
7	Presença	Presença
9	Ausência	Presença
14	Ausência	Presença
ENZIMA α-AMILASE		
	Enzima extracelular	Enzima intracelular
Dia	Atividade enzimática	
0	Ausência	Ausência
2	Ausência	Ausência
5	Ausência	Ausência
7	Ausência	Ausência
9	Ausência	Ausência
14	Ausência	Ausência

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A microalga *P. kessleri* na extração intracelular expressou presença de atividade enzimática para lipase até o 7º dia de cultivo e na forma extracelular teve presença de atividade até o 9º dia de cultivo. De acordo com Shaikh et al. (2020) esta espécie de microalga se destaca entre outras espécies para acumulação de lipídios na forma de lipídios neutros de armazenamento. A grande maioria dos estudos para a obtenção da enzima lipase são de fonte bacteriana, contudo, Ben Hlima et al. (2021) identificou no genoma da espécie *Chlorella vulgaris* a presença da enzima lipase, outro estudo relevante é o de Hashiro et al. (2018) que identificou atividade específica para galactolipase em *Chlorella kessleri*, esta é uma espécie pertencente a classe Trebouxiophyceae e filo Chlorophyta, a mesma classificação que a espécie deste estudo (KRIENITZ et al., 2004; SHAIKH et al., 2020).

A enzima protease demonstrou presença em ambas as formas de extração, mas quando extracelular somente no 7º dia de cultivo e intracelular no início do cultivo e ao longo do tempo

foi diminuindo a atividade enzimática. Para α -amilase foi expressado a ausência de atividade enzimática para enzimas extracelular e intracelular. Conforme os estudos da literatura até o presente momento não foi identificado atividade enzimática para enzimas protease e α -amilase em espécies de microalgas em geral, deste modo, este estudo se caracteriza por ser pioneiro para avaliação qualitativa das enzimas analisadas para espécie *P. kessleri*.

5.5 CONCLUSÃO

A biomassa obtida da espécie *P. kessleri* após o tratamento terciário do efluente de processamento de frango se caracterizou como promissora para futuras aplicações biotecnológicas.

A composição da biomassa para proteína mostrou que T45 obteve um desempenho melhor que os outros tratamentos, obtendo o teor de 29%. A análise termogravimétrica demonstrou que a biomassa da *P. kessleri* foi completamente degradada e obteve os 3 estágios em todos os tratamentos. Entre todos os tratamentos, T80 se destacou na geração de 52% de material orgânico e 13% de cinzas, enquanto os demais tratamentos o teor foi de 9%. Os principais micronutrientes compostos por metais (Cu, Cd, Pb, Cr, Mo, Ni, Fe, Mn, P e Al) foram removidos mais de 50% pela microalga, já os macronutrientes, principalmente Ca, Na e K, obtiveram uma bioacumulação na biomassa de 34%, 158% e 97%, respectivamente. A caracterização enzimática para espécie *P. kessleri* se mostrou positiva em relação a presença de enzimas como lipase e protease, indicando uma promissora descoberta para a espécie estudada.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que a microalga *Parachlorella kessleri* é uma espécie com boa adaptabilidade para ser cultivada no efluente de processamento de frango e foi capaz de remover mais de 90% de nitrogênio presente no efluente. Ainda, os resultados alcançados mostram que com o tratamento realizado à base de microalga é possível atender os aspectos legais para concentração de nitrogênio. Contudo, a taxa de crescimento específico e produtividade em biomassa seca teve um desempenho inferior ao encontrado na literatura para espécies do gênero *Chlorella* sp., e de encontro a estes resultados, o rendimento da biomassa foi relativamente baixo.

De acordo com a caracterização bromatológica, o teor de proteína foi semelhante ao obtido para a espécie *P. kessleri* e as concentrações de metais na biomassa foram removidas

mais de 50%, porém, houve bioacumulação de elementos minerais, se tornando um aspecto positivo para reaproveitamento deste resíduo como biofertilizante. Para a caracterização enzimática, a *P. kessleri* apresentou atividade enzimática para as enzimas lipases e protease, indicando uma promissora descoberta para espécie estudada.

Em um contexto geral a biotecnologia de aplicação da microalga estudada para tratamento terciário da indústria de processamento de frango mostrou ser um método promitente para remoção de nitrogênio do efluente e gerou subprodutos com potenciais aplicações comerciais. Considerando todo o desenvolvimento e resultados alcançados deste estudo, pode-se apontar algumas sugestões para trabalhos futuros:

- Avaliar o cultivo da espécie *P. kessleri* em sistemas de fotobiorreatores com intuito de obter resultados em escala piloto;
- avaliar o uso de incorporação de CO₂ para regulação da concentração de oxigênio dissolvido;
- avaliar concentrações mais elevadas de células/mL para obtenção de maior produtividade e rendimento de biomassa;
- avaliar o estudo da hidrodinâmica do sistema para obtenção da taxa de retenção hidráulica;
- avaliar o teor de carboidrato e perfil de ácidos graxos presentes na biomassa residual;
- avaliar a obtenção das enzimas lipase e protease de forma quantitativa.

REFERÊNCIAS

- ABDELFATTAH, A. et al. Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. **Environmental Science and Ecotechnology**, p. 100205, set. 2022.
- ABPA. **Relatório Anual 2021 Associação Brasileira de Proteína Animal**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>.
- AGRAWAL, A.; CHAKRABORTY, S. A kinetic study of pyrolysis and combustion of microalgae *Chlorella vulgaris* using thermo-gravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 72–80, jan. 2013.
- AKETO, T. et al. Selection and characterization of microalgae with potential for nutrient removal from municipal wastewater and simultaneous lipid production. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 129, n. 5, p. 565–572, maio 2020.
- AL KETIFE, A. M. D.; AL MOMANI, F.; JUDD, S. A bioassimilation and bioaccumulation model for the removal of heavy metals from wastewater using algae: New strategy. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 144, p. 52–64, dez. 2020.
- ALMOMANI, F. et al. Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using *Spirulina platensis* and mixed algal culture. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 124, p. 240–250, abr. 2019.
- ALMOMANI, F. A.; ÖRMECI, B. Performance Of *Chlorella Vulgaris*, *Neochloris Oleoabundans*, and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent, secondary effluent and centrate. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 280–289, out. 2016.
- AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16. ed. Washington, DC: [s.n.].
- APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: [s.n.].
- ARIAS, D. M. et al. Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 513–519, jan. 2018.
- ARREDONDO, B. et al. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. México: [s.n.].
- ARVIN, E. Observations Supporting Phosphate Removal by Biologically Mediated Chemical Precipitation – A Review. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 3–4, p. 43–63, 1 mar.

1983.

AZAM, R. et al. Production of algal biomass for its biochemical profile using slaughterhouse wastewater for treatment under axenic conditions. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123116, jun. 2020.

AZIZI, K.; KESHAVARZ MORAVEJI, M.; ABEDINI NAJAFABADI, H. Characteristics and kinetics study of simultaneous pyrolysis of microalgae *Chlorella vulgaris*, wood and polypropylene through TGA. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 481–491, nov. 2017.

AZOV, Y. Effect of pH on Inorganic Carbon Uptake in Algal Cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1300–1306, jun. 1982.

BACH, Q.-V.; CHEN, W.-H. A comprehensive study on pyrolysis kinetics of microalgal biomass. **Energy Conversion and Management**, v. 131, p. 109–116, jan. 2017a.

BACH, Q.-V.; CHEN, W.-H. Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgae via thermogravimetric analysis (TGA): A state-of-the-art review. **Bioresource Technology**, v. 246, p. 88–100, dez. 2017b.

BAKER, B. R. et al. Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 42, n. 6, p. 880–899, 3 maio 2021.

BAYAR, S. et al. The effect of stirring speed and current density on removal efficiency of poultry slaughterhouse wastewater by electrocoagulation method. **Desalination**, v. 280, n. 1–3, p. 103–107, out. 2011.

BEN HLIMA, H. et al. Molecular and Structural Characterizations of Lipases from *Chlorella* by Functional Genomics. **Marine Drugs**, v. 19, n. 2, p. 70, 28 jan. 2021.

BHATT, P. et al. Algae in wastewater treatment , mechanism , and application of biomass for production of value-added product ☆. **Environmental Pollution**, v. 309, n. June, p. 119688, 2022a.

BHATT, P. et al. Microalgae-based removal of pollutants from wastewaters: Occurrence, toxicity and circular economy. **Chemosphere**, v. 306, p. 135576, nov. 2022b.

BOROWITZKA, M. A. **Handbook of Microalgal Culture**. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2013.

BRABCOVÁ, J. et al. Characterization of Neutral Lipase BT-1 Isolated from the Labial Gland of *Bombus terrestris* Males. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80066, 8 nov. 2013.

BRASIL. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011** Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), , 2011. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>

- BRASIL. **Resolução Conama Nº 498** Brasil Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), , 2020.
- BRASIL. **Ministério da Saúde nº 888 de 4 de maio de 2021** BRASIL, 2021.
- CARUANA, A. M. N.; AMZIL, Z. Microalgae and Toxins. In: **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 263–305.
- CHAN-PACHECO, C. R. et al. Novel biotechnologies for nitrogen removal and their coupling with gas emissions abatement in wastewater treatment facilities. **Science of The Total Environment**, v. 797, p. 149228, nov. 2021.
- CHEN, C.-Y. et al. Cultivating *Chlorella sorokiniana* AK-1 with swine wastewater for simultaneous wastewater treatment and algal biomass production. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122814, abr. 2020a.
- CHEN, C.; DURBIN, E. Effects of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. **Marine Ecology Progress Series**, v. 109, n. 1, p. 83–94, 1994.
- CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based nitrogen bioremediation. **Algal Research**, v. 46, p. 101775, mar. 2020.
- CHEN, Z. et al. Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus* sp. PW1. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122806, abr. 2020b.
- CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53–62, abr. 2017.
- CHRIS DE VISSERF, W. VAN D. Analysis of dry weight algae biomass concentration. In: **Standard Operating Procedures for Analytical Methods and Data Collection in Support of Pilot-Scale Cultivation of Microalgae**. Swansea: [s.n.]. p. 239.
- CUI, H. et al. Mitigating excessive ammonia nitrogen in chicken farm flushing wastewater by mixing strategy for nutrient removal and lipid accumulation in the green alga *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122940, maio 2020.
- DAVARNEJAD, R.; NASIRI, S. Slaughterhouse wastewater treatment using an advanced oxidation process: Optimization study. **Environmental Pollution**, v. 223, p. 1–10, abr. 2017.
- DEL NERY, V. et al. Long-term operating performance of a poultry slaughterhouse wastewater treatment plant. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 50, n. 1, p. 102–114, mar. 2007.
- DEL NERY, V. et al. Poultry slaughterhouse wastewater treatment plant for high quality effluent. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 2, p. 309–316, 28 jan. 2016.
- DENG, X. et al. Biomass production and biochemical profiles of a freshwater microalga

Chlorella kessleri in mixotrophic culture: Effects of light intensity and photoperiodicity.

Bioresource Technology, v. 273, p. 358–367, fev. 2019.

DIVAKAR, S. Introduction. In: **Enzymatic Transformation**. India: Springer India, 2013. p. 1–3.

EPAGRI/CEPA. **Boletim Agropecuário - Julho 2021**. Florianópolis/SC: [s.n.].

FAO. **Food Outlook: BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2021.

FAO. **Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2022.

FERREIRA, A. et al. Combining biotechnology with circular bioeconomy : From poultry , swine , cattle , brewery , dairy and urban wastewaters to biohydrogen. **Environmental Research**, v. 164, n. December 2017, p. 32–38, 2018.

FORRUQUE, S. et al. Progress and challenges of contaminate removal from wastewater using microalgae biomass. **Chemosphere**, v. 286, n. P1, p. 131656, 2022.

FOX, J. M.; ZIMBA, P. V. Minerals and Trace Elements in Microalgae. In: **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 177–193.

GAO, Y. et al. Physiological Changes of Parachlorella Kessleri TY02 in Lipid Accumulation under Nitrogen Stress. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 7, p. 1188, 2 abr. 2019.

GEADA, P. et al. Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional properties. **Bioresource Technology**, v. 332, p. 125125, jul. 2021.

GONZÁLEZ-CAMEJO, J. et al. Nitrite inhibition of microalgae induced by the competition between microalgae and nitrifying bacteria. **Water Research**, v. 172, p. 115499, abr. 2020.

GORMAN, D. S.; LEVINE, R. P. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardtii*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 54, n. 6, p. 1665–1669, 1 dez. 1965.

GOUR, R. S. et al. Enhanced microalgal lipid production with media engineering of potassium nitrate as a nitrogen source. **Bioengineered**, v. 9, n. 1, p. 98–107, 1 jan. 2018.

GUPTA, S. K. et al. Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 115, p. 255–264, mar. 2016.

GUPTA, S.; PAWAR, S. B.; PANDEY, R. A. Current practices and challenges in using microalgae for treatment of nutrient rich wastewater from agro-based industries. **Science of The Total Environment**, v. 687, p. 1107–1126, out. 2019.

- HASHIRO, S. et al. A novel galactolipase from a green microalga *Chlorella kessleri*: purification, characterization, molecular cloning, and heterologous expression. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 4, p. 1711–1723, 3 fev. 2018.
- HENRY, E. C. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. **Journal of Phycology**, v. 40, n. 5, p. 1001–1002, 2004.
- JAIS, N. M. et al. The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 19, n. 1, p. 37–52, 29 jan. 2017.
- JESUS, P. DA C. C. DE et al. Extracellular carotenoid production and fatty acids profile of *Parachlorella kessleri* under increased CO₂ concentrations. **Journal of Biotechnology**, v. 329, p. 151–159, mar. 2021.
- KANTER, D. R. Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. **Climatic Change**, v. 147, n. 1–2, p. 11–21, 6 mar. 2018.
- KATIRCIOĞLU SINMAZ, G.; ERDEN, B.; ŞENGİL, İ. A. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in alkaline condition for biodiesel feedstock after biological treatment of poultry slaughterhouse wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 11 abr. 2022.
- KAZBAR, A. et al. Effect of dissolved oxygen concentration on microalgal culture in photobioreactors. **Algal Research**, v. 39, p. 101432, maio 2019.
- KIM, J. K. et al. Potential applications of nuisance microalgae blooms. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 3, p. 1223–1234, 19 jun. 2015.
- KRIENITZ, L. et al. Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Phycologia**, v. 43, n. 5, p. 529–542, 6 set. 2004.
- KUMAR, A. et al. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 7, p. 371–380, jul. 2010.
- KUMAR, A.; BERA, S. Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. **Bioresource Technology Reports**, v. 12, p. 100584, dez. 2020.
- KUMAR, N. et al. Valorization of wastewater through microalgae as a prospect for generation of biofuel and high-value products. **Journal of Cleaner Production**, v. 362, p. 132114, ago. 2022.
- LARSDOTTER, K.; JANSEN, J. LA C.; DALHAMMAR, G. BIOLOGICALLY MEDIATED PHOSPHORUS PRECIPITATION IN WASTEWATER TREATMENT WITH MICROALGAE. **Environmental Technology**, v. 28, n. 9, p. 953–960, set. 2007.

- LEONG, Y. K.; CHANG, J.-S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122886, maio 2020.
- LIU, J. et al. Wastewater treatment using filamentous algae – A review. **Bioresource Technology**, v. 298, p. 122556, fev. 2020.
- LIU, X.-Y. et al. Performance and mechanism of Chlorella in swine wastewater treatment: Roles of nitrogen-phosphorus ratio adjustment and indigenous bacteria. **Bioresource Technology**, v. 358, p. 127402, ago. 2022.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114612, abr. 2022a.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-mediated bioremediation of cattle, swine and poultry digestates using mono- and mixed-cultures coupled with an optimal mixture design. **Algal Research**, v. 64, p. 102717, maio 2022b.
- LOURENÇO, S. DE O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. [s.l.] RiMa, 2006.
- MOHAN SINGH, H. et al. Bioprocessing of cultivated Chlorella pyrenoidosa on poultry excreta leachate to enhance algal biomolecule profile for resource recovery. **Bioresource Technology**, v. 316, p. 123850, nov. 2020.
- MOHD UDAIYAPPAN, A. F. et al. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8–21, dez. 2017.
- MOHSENPOUR, S. F. et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. **Science of The Total Environment**, v. 752, p. 142168, jan. 2021.
- MORAIS JUNIOR, W. G. et al. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, nov. 2020.
- NOGUCHI, M. et al. Application of real treated wastewater to starch production by microalgae: Potential effect of nutrients and microbial contamination. **Biochemical Engineering Journal**, v. 169, p. 107973, maio 2021.
- O'ROURKE, R.; GAFFNEY, M.; MURPHY, R. The effects of Parachlorella kessleri cultivation on brewery wastewater. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 6, p. 1401–1408, 22 mar. 2016.
- OLIVEIRA, A. C. et al. Scenedesmus obliquus in poultry wastewater bioremediation. **Environmental Technology**, v. 40, n. 28, p. 3735–3744, 19 dez. 2019.

- PASTORE, G. M.; COSTA, V. DOS S. R. DA; KOBLITZ, M. G. B. Purificação parcial e caracterização bioquímica de lipase extracelular produzida por nova linhagem de *Rhizopus* sp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 135–140, ago. 2003.
- POTRICH, M. C. et al. Electrocoagulation for nutrients removal in the slaughterhouse wastewater: comparison between iron and aluminum electrodes treatment. **Environmental Technology**, p. 1–15, 20 ago. 2020.
- POWELL, N. et al. Luxury uptake of phosphorus by microalgae in full-scale waste stabilisation ponds. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 4, p. 704–709, 1 fev. 2011.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635–648, 6 nov. 2004.
- QIU, R. et al. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Algal Research**, v. 28, p. 192–199, dez. 2017.
- QU, W. et al. Optimizing real swine wastewater treatment with maximum carbohydrate production by a newly isolated indigenous microalga *Parachlorella kessleri* QWY28. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121702, out. 2019.
- RAHIMI, S.; MODIN, O.; MIJAKOVIC, I. Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. **Biotechnology Advances**, v. 43, p. 107570, nov. 2020.
- RAMAKRISHNAN, V. et al. Extraction and purification of lipase from *Enterococcus faecium* MTCC5695 by PEG/phosphate aqueous-two phase system (ATPS) and its biochemical characterization. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 6, p. 19–27, abr. 2016.
- RENUKA, N. et al. Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. **Environ Sci Pollut Res**, v. 23, n. 2016, p. 6608–6620, 2020.
- RIZWAN, M. et al. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394–404, set. 2018.
- RIZZO, A. M. et al. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied Energy**, v. 102, p. 24–31, fev. 2013.
- ROSS, M. E. et al. Nitrogen uptake by the macro-algae *Cladophora coelothrix* and *Cladophora parriaudii*: Influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition. **Algal Research**, v. 30, p. 1–10, mar. 2018.
- SAFI, C. et al. Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. **Algal Research**, v. 8, p. 61–68, mar. 2015.

- SARAYU, K.; SANDHYA, S. Current Technologies for Biological Treatment of Textile Wastewater—A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 3, p. 645–661, 15 jun. 2012.
- SHAIKH, K. M. et al. Hybrid genome assembly and functional annotation reveals insights on lipid biosynthesis of oleaginous native isolate *Parachlorella kessleri*, a potential industrial strain for production of biofuel precursors. **Algal Research**, v. 52, p. 102118, dez. 2020.
- SHARMA, A. K.; PARUL; GENERAL, T. Variation of both chemical composition and antioxidant properties of newly isolated *Parachlorella kessleri* GB1, by growing in different culture conditions. **LWT**, v. 112, p. 108205, set. 2019.
- SILKINA, A. et al. **Standard Operating Procedures for Analytical Methods and Data Collection in Support of Pilot-Scale Cultivation of Microalgae Energetic Algae ('EnAlgae')**. Swansea: [s.n.].
- SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 431–444, out. 2015.
- SKORUPSKAITE, V. et al. Microalgae *Chlorella* sp. cell disruption efficiency utilising ultrasonication and ultrahomogenisation methods. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 4, p. 2349–2354, 14 ago. 2019.
- SOARES, R. B.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, R. F. Thermochemical conversion of wastewater microalgae: The effects of coagulants used in the harvest process. **Algal Research**, v. 47, p. 101864, maio 2020.
- SOLIMENO, A. et al. Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. **Science of The Total Environment**, v. 601–602, p. 646–657, dez. 2017.
- SOROOSH, H.; OTTERPOHL, R.; HANELT, D. Influence of hydraulic retention time on municipal wastewater treatment using microalgae-bacteria flocs in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, p. 100884, fev. 2022.
- SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144590, mar. 2021.
- SURESH KUMAR, K. et al. Microalgae – A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 329–352, mar. 2015.
- TAŞKAN, E. Performance of mixed algae for treatment of slaughterhouse wastewater and microbial community analysis. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, p. 20474–20482, 2016.
- TERÁN HILARES, R. et al. Promising physicochemical technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A critical review. **Journal of Environmental**

Chemical Engineering, v. 9, n. 2, p. 105174, abr. 2021a.

TERÁN HILARES, R. et al. Acid precipitation followed by microalgae (*Chlorella vulgaris*) cultivation as a new approach for poultry slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 335, p. 125284, set. 2021b.

U.S. EPA. National Primary Drinking Water Guidelines. **Epa 816-F-09-004**, v. 1, p. United States Environmental Protection Agency. 7p, 2009.

VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Evaluation of microalgae as bioremediation agent for poultry effluent and biostimulant for germination. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102048, nov. 2021.

WANG, J. et al. Ammonium Nitrogen Tolerant *Chlorella* Strain Screening and Its Damaging Effects on Photosynthesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 7 jan. 2019.

WANG, J. et al. Domesticating *Chlorella vulgaris* with gradually increased the concentration of digested piggery wastewater to bio-remove ammonia nitrogen. **Algal Research**, v. 60, p. 102526, dez. 2021.

WANG, L. et al. Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 1174–1186, 24 out. 2010.

WU, Q. et al. Effect of phosphorus concentration and light/dark condition on phosphorus uptake and distribution with microalgae. **Bioresource Technology**, v. 340, p. 125745, nov. 2021.

YOU, Y. et al. Synthesized cationic starch grafted tannin as a novel flocculant for efficient microalgae harvesting. **Journal of Cleaner Production**, v. 344, p. 131042, abr. 2022.

ABDELFATTAH, A. et al. Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. **Environmental Science and Ecotechnology**, p. 100205, set. 2022.

ABPA. **Relatório Anual 2021 Associação Brasileira de Proteína Animal**. São Paulo: [s.n.]. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>.

AGRAWAL, A.; CHAKRABORTY, S. A kinetic study of pyrolysis and combustion of microalgae *Chlorella vulgaris* using thermo-gravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 72–80, jan. 2013.

AKETO, T. et al. Selection and characterization of microalgae with potential for nutrient removal from municipal wastewater and simultaneous lipid production. **Journal of**

Bioscience and Bioengineering, v. 129, n. 5, p. 565–572, maio 2020.

AL KETIFE, A. M. D.; AL MOMANI, F.; JUDD, S. A bioassimilation and bioaccumulation model for the removal of heavy metals from wastewater using algae: New strategy. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 144, p. 52–64, dez. 2020.

ALMOMANI, F. et al. Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using *Spirulina platensis* and mixed algal culture. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 124, p. 240–250, abr. 2019.

ALMOMANI, F. A.; ÖRMECI, B. Performance Of *Chlorella Vulgaris*, *Neochloris Oleoabundans*, and mixed indigenous microalgae for treatment of primary effluent, secondary effluent and centrate. **Ecological Engineering**, v. 95, p. 280–289, out. 2016.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16. ed. Washington, DC: [s.n.].

APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington: [s.n.].

ARIAS, D. M. et al. Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 513–519, jan. 2018.

ARREDONDO, B. et al. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. México: [s.n.].

ARVIN, E. Observations Supporting Phosphate Removal by Biologically Mediated Chemical Precipitation – A Review. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 3–4, p. 43–63, 1 mar. 1983.

AZAM, R. et al. Production of algal biomass for its biochemical profile using slaughterhouse wastewater for treatment under axenic conditions. **Bioresource Technology**, v. 306, p. 123116, jun. 2020.

AZIZI, K.; KESHAVARZ MORAVEJI, M.; ABEDINI NAJAFABADI, H. Characteristics and kinetics study of simultaneous pyrolysis of microalgae *Chlorella vulgaris*, wood and polypropylene through TGA. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 481–491, nov. 2017.

AZOV, Y. Effect of pH on Inorganic Carbon Uptake in Algal Cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 1300–1306, jun. 1982.

BACH, Q.-V.; CHEN, W.-H. A comprehensive study on pyrolysis kinetics of microalgal biomass. **Energy Conversion and Management**, v. 131, p. 109–116, jan. 2017a.

BACH, Q.-V.; CHEN, W.-H. Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgae via thermogravimetric analysis (TGA): A state-of-the-art review. **Bioresource Technology**, v.

246, p. 88–100, dez. 2017b.

BAKER, B. R. et al. Advanced technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A systematic review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 42, n. 6, p. 880–899, 3 maio 2021.

BAYAR, S. et al. The effect of stirring speed and current density on removal efficiency of poultry slaughterhouse wastewater by electrocoagulation method. **Desalination**, v. 280, n. 1–3, p. 103–107, out. 2011.

BEN HLIMA, H. et al. Molecular and Structural Characterizations of Lipases from *Chlorella* by Functional Genomics. **Marine Drugs**, v. 19, n. 2, p. 70, 28 jan. 2021.

BHATT, P. et al. Algae in wastewater treatment , mechanism , and application of biomass for production of value-added product ☆. **Environmental Pollution**, v. 309, n. June, p. 119688, 2022a.

BHATT, P. et al. Microalgae-based removal of pollutants from wastewaters: Occurrence, toxicity and circular economy. **Chemosphere**, v. 306, p. 135576, nov. 2022b.

BOROWITZKA, M. A. **Handbook of Microalgal Culture**. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2013.

BRABCOVÁ, J. et al. Characterization of Neutral Lipase BT-1 Isolated from the Labial Gland of *Bombus terrestris* Males. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e80066, 8 nov. 2013.

BRASIL. **Resolução N° 430, De 13 De Maio De 2011** Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), , 2011. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>

BRASIL. **Resolução Conama N° 498** Brasil Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), , 2020.

BRASIL. **Ministério da Saúde n° 888 de 4 de maio de 2021** BRASIL, 2021.

CARUANA, A. M. N.; AMZIL, Z. Microalgae and Toxins. In: **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 263–305.

CHAN-PACHECO, C. R. et al. Novel biotechnologies for nitrogen removal and their coupling with gas emissions abatement in wastewater treatment facilities. **Science of The Total Environment**, v. 797, p. 149228, nov. 2021.

CHEN, C.-Y. et al. Cultivating *Chlorella sorokiniana* AK-1 with swine wastewater for simultaneous wastewater treatment and algal biomass production. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122814, abr. 2020a.

CHEN, C.; DURBIN, E. Effects of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. **Marine Ecology Progress Series**, v. 109, n. 1, p. 83–94, 1994.

- CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based nitrogen bioremediation. **Algal Research**, v. 46, p. 101775, mar. 2020.
- CHEN, Z. et al. Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus* sp. PW1. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122806, abr. 2020b.
- CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53–62, abr. 2017.
- CHRIS DE VISSERF, W. VAN D. Analysis of dry weight algae biomass concentration. In: **Standard Operating Procedures for Analytical Methods and Data Collection in Support of Pilot-Scale Cultivation of Microalgae**. Swansea: [s.n.]. p. 239.
- CUI, H. et al. Mitigating excessive ammonia nitrogen in chicken farm flushing wastewater by mixing strategy for nutrient removal and lipid accumulation in the green alga *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122940, maio 2020.
- DAVARNEJAD, R.; NASIRI, S. Slaughterhouse wastewater treatment using an advanced oxidation process: Optimization study. **Environmental Pollution**, v. 223, p. 1–10, abr. 2017.
- DEL NERY, V. et al. Long-term operating performance of a poultry slaughterhouse wastewater treatment plant. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 50, n. 1, p. 102–114, mar. 2007.
- DEL NERY, V. et al. Poultry slaughterhouse wastewater treatment plant for high quality effluent. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 2, p. 309–316, 28 jan. 2016.
- DENG, X. et al. Biomass production and biochemical profiles of a freshwater microalga *Chlorella kessleri* in mixotrophic culture: Effects of light intensity and photoperiodicity. **Bioresource Technology**, v. 273, p. 358–367, fev. 2019.
- DIVAKAR, S. Introduction. In: **Enzymatic Transformation**. India: Springer India, 2013. p. 1–3.
- EPAGRI/CEPA. **Boletim Agropecuário - Julho 2021**. Florianópolis/SC: [s.n.].
- FAO. **Food Outlook: BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2021.
- FAO. **Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets**. Rome: Food and Agriculture Organization, 2022.
- FERREIRA, A. et al. Combining biotechnology with circular bioeconomy : From poultry , swine , cattle , brewery , dairy and urban wastewaters to biohydrogen. **Environmental Research**, v. 164, n. December 2017, p. 32–38, 2018.
- FORRUQUE, S. et al. Progress and challenges of contaminate removal from wastewater

- using microalgae biomass. **Chemosphere**, v. 286, n. P1, p. 131656, 2022.
- FOX, J. M.; ZIMBA, P. V. Minerals and Trace Elements in Microalgae. In: **Microalgae in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 177–193.
- GAO, Y. et al. Physiological Changes of Parachlorella Kessleri TY02 in Lipid Accumulation under Nitrogen Stress. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 7, p. 1188, 2 abr. 2019.
- GEADA, P. et al. Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional properties. **Bioresource Technology**, v. 332, p. 125125, jul. 2021.
- GONZÁLEZ-CAMEJO, J. et al. Nitrite inhibition of microalgae induced by the competition between microalgae and nitrifying bacteria. **Water Research**, v. 172, p. 115499, abr. 2020.
- GORMAN, D. S.; LEVINE, R. P. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of Chlamydomonas reinhardi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 54, n. 6, p. 1665–1669, 1 dez. 1965.
- GOUR, R. S. et al. Enhanced microalgal lipid production with media engineering of potassium nitrate as a nitrogen source. **Bioengineered**, v. 9, n. 1, p. 98–107, 1 jan. 2018.
- GUPTA, S. K. et al. Dual role of Chlorella sorokiniana and Scenedesmus obliquus for comprehensive wastewater treatment and biomass production for bio-fuels. **Journal of Cleaner Production**, v. 115, p. 255–264, mar. 2016.
- GUPTA, S.; PAWAR, S. B.; PANDEY, R. A. Current practices and challenges in using microalgae for treatment of nutrient rich wastewater from agro-based industries. **Science of The Total Environment**, v. 687, p. 1107–1126, out. 2019.
- HASHIRO, S. et al. A novel galactolipase from a green microalga Chlorella kessleri: purification, characterization, molecular cloning, and heterologous expression. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 4, p. 1711–1723, 3 fev. 2018.
- HENRY, E. C. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. **Journal of Phycology**, v. 40, n. 5, p. 1001–1002, 2004.
- JAIS, N. M. et al. The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 19, n. 1, p. 37–52, 29 jan. 2017.
- JESUS, P. DA C. C. DE et al. Extracellular carotenoid production and fatty acids profile of Parachlorella kessleri under increased CO₂ concentrations. **Journal of Biotechnology**, v. 329, p. 151–159, mar. 2021.
- KANTER, D. R. Nitrogen pollution: a key building block for addressing climate change. **Climatic Change**, v. 147, n. 1–2, p. 11–21, 6 mar. 2018.

- KATIRCIOĞLU SINMAZ, G.; ERDEN, B.; ŞENGİL, İ. A. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in alkaline condition for biodiesel feedstock after biological treatment of poultry slaughterhouse wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 11 abr. 2022.
- KAZBAR, A. et al. Effect of dissolved oxygen concentration on microalgal culture in photobioreactors. **Algal Research**, v. 39, p. 101432, maio 2019.
- KIM, J. K. et al. Potential applications of nuisance microalgae blooms. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 3, p. 1223–1234, 19 jun. 2015.
- KRIENITZ, L. et al. Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Phycologia**, v. 43, n. 5, p. 529–542, 6 set. 2004.
- KUMAR, A. et al. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 7, p. 371–380, jul. 2010.
- KUMAR, A.; BERA, S. Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. **Bioresource Technology Reports**, v. 12, p. 100584, dez. 2020.
- KUMAR, N. et al. Valorization of wastewater through microalgae as a prospect for generation of biofuel and high-value products. **Journal of Cleaner Production**, v. 362, p. 132114, ago. 2022.
- LARSDOTTER, K.; JANSEN, J. LA C.; DALHAMMAR, G. BIOLOGICALLY MEDIATED PHOSPHORUS PRECIPITATION IN WASTEWATER TREATMENT WITH MICROALGAE. **Environmental Technology**, v. 28, n. 9, p. 953–960, set. 2007.
- LEONG, Y. K.; CHANG, J.-S. Bioremediation of heavy metals using microalgae: Recent advances and mechanisms. **Bioresource Technology**, v. 303, p. 122886, maio 2020.
- LIU, J. et al. Wastewater treatment using filamentous algae – A review. **Bioresource Technology**, v. 298, p. 122556, fev. 2020.
- LIU, X.-Y. et al. Performance and mechanism of *Chlorella* in swine wastewater treatment: Roles of nitrogen-phosphorus ratio adjustment and indigenous bacteria. **Bioresource Technology**, v. 358, p. 127402, ago. 2022.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114612, abr. 2022a.
- LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-mediated bioremediation of cattle, swine and poultry digestates using mono- and mixed-cultures coupled with an optimal mixture design.

Algal Research, v. 64, p. 102717, maio 2022b.

LOURENÇO, S. DE O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. [s.l.] RiMa, 2006.

MOHAN SINGH, H. et al. Bioprocessing of cultivated *Chlorella pyrenoidosa* on poultry excreta leachate to enhance algal biomolecule profile for resource recovery. **Bioresource Technology**, v. 316, p. 123850, nov. 2020.

MOHD UDAIYAPPAN, A. F. et al. A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment. **Journal of Water Process Engineering**, v. 20, p. 8–21, dez. 2017.

MOHSENPOUR, S. F. et al. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. **Science of The Total Environment**, v. 752, p. 142168, jan. 2021.

MORAIS JUNIOR, W. G. et al. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, nov. 2020.

NOGUCHI, M. et al. Application of real treated wastewater to starch production by microalgae: Potential effect of nutrients and microbial contamination. **Biochemical Engineering Journal**, v. 169, p. 107973, maio 2021.

O'ROURKE, R.; GAFFNEY, M.; MURPHY, R. The effects of *Parachlorella kessleri* cultivation on brewery wastewater. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 6, p. 1401–1408, 22 mar. 2016.

OLIVEIRA, A. C. et al. *Scenedesmus obliquus* in poultry wastewater bioremediation. **Environmental Technology**, v. 40, n. 28, p. 3735–3744, 19 dez. 2019.

PASTORE, G. M.; COSTA, V. DOS S. R. DA; KOBLITZ, M. G. B. Purificação parcial e caracterização bioquímica de lipase extracelular produzida por nova linhagem de *Rhizopus* sp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 135–140, ago. 2003.

POTRICH, M. C. et al. Electrocoagulation for nutrients removal in the slaughterhouse wastewater: comparison between iron and aluminum electrodes treatment. **Environmental Technology**, p. 1–15, 20 ago. 2020.

POWELL, N. et al. Luxury uptake of phosphorus by microalgae in full-scale waste stabilisation ponds. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 4, p. 704–709, 1 fev. 2011.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, n. 6, p. 635–648, 6 nov. 2004.

QIU, R. et al. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO₂ addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Algal Research**, v. 28, p. 192–199, dez. 2017.

QU, W. et al. Optimizing real swine wastewater treatment with maximum carbohydrate

- production by a newly isolated indigenous microalga *Parachlorella kessleri* QWY28. **Bioresource Technology**, v. 289, p. 121702, out. 2019.
- RAHIMI, S.; MODIN, O.; MIJAKOVIC, I. Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. **Biotechnology Advances**, v. 43, p. 107570, nov. 2020.
- RAMAKRISHNAN, V. et al. Extraction and purification of lipase from *Enterococcus faecium* MTCC5695 by PEG/phosphate aqueous-two phase system (ATPS) and its biochemical characterization. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 6, p. 19–27, abr. 2016.
- RENUKA, N. et al. Exploring the efficacy of wastewater-grown microalgal biomass as a biofertilizer for wheat. **Environ Sci Pollut Res**, v. 23, n. 2016, p. 6608–6620, 2020.
- RIZWAN, M. et al. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394–404, set. 2018.
- RIZZO, A. M. et al. Characterization of microalga *Chlorella* as a fuel and its thermogravimetric behavior. **Applied Energy**, v. 102, p. 24–31, fev. 2013.
- ROSS, M. E. et al. Nitrogen uptake by the macro-algae *Cladophora coelothrix* and *Cladophora parriaudii*: Influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition. **Algal Research**, v. 30, p. 1–10, mar. 2018.
- SAFI, C. et al. Understanding the effect of cell disruption methods on the diffusion of *Chlorella vulgaris* proteins and pigments in the aqueous phase. **Algal Research**, v. 8, p. 61–68, mar. 2015.
- SARAYU, K.; SANDHYA, S. Current Technologies for Biological Treatment of Textile Wastewater—A Review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 167, n. 3, p. 645–661, 15 jun. 2012.
- SHAIKH, K. M. et al. Hybrid genome assembly and functional annotation reveals insights on lipid biosynthesis of oleaginous native isolate *Parachlorella kessleri*, a potential industrial strain for production of biofuel precursors. **Algal Research**, v. 52, p. 102118, dez. 2020.
- SHARMA, A. K.; PARUL; GENERAL, T. Variation of both chemical composition and antioxidant properties of newly isolated *Parachlorella kessleri* GB1, by growing in different culture conditions. **LWT**, v. 112, p. 108205, set. 2019.
- SILKINA, A. et al. **Standard Operating Procedures for Analytical Methods and Data Collection in Support of Pilot-Scale Cultivation of Microalgae Energetic Algae ('EnAlgae')**. Swansea: [s.n.].
- SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A

- review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 431–444, out. 2015.
- SKORUPSKAITE, V. et al. Microalgae *Chlorella* sp. cell disruption efficiency utilising ultrasonication and ultrahomogenisation methods. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 4, p. 2349–2354, 14 ago. 2019.
- SOARES, R. B.; MARTINS, M. F.; GONÇALVES, R. F. Thermochemical conversion of wastewater microalgae: The effects of coagulants used in the harvest process. **Algal Research**, v. 47, p. 101864, maio 2020.
- SOLIMENO, A. et al. Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. **Science of The Total Environment**, v. 601–602, p. 646–657, dez. 2017.
- SOROOSH, H.; OTTERPOHL, R.; HANELT, D. Influence of hydraulic retention time on municipal wastewater treatment using microalgae-bacteria flocs in sequencing batch reactors. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, p. 100884, fev. 2022.
- SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144590, mar. 2021.
- SURESH KUMAR, K. et al. Microalgae – A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 329–352, mar. 2015.
- TAŞKAN, E. Performance of mixed algae for treatment of slaughterhouse wastewater and microbial community analysis. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, p. 20474–20482, 2016.
- TERÁN HILARES, R. et al. Promising physicochemical technologies for poultry slaughterhouse wastewater treatment: A critical review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 2, p. 105174, abr. 2021a.
- TERÁN HILARES, R. et al. Acid precipitation followed by microalgae (*Chlorella vulgaris*) cultivation as a new approach for poultry slaughterhouse wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 335, p. 125284, set. 2021b.
- U.S. EPA. National Primary Drinking Water Guidelines. **Epa 816-F-09-004**, v. 1, p. United States Environmental Protection Agency. 7p, 2009.
- VIEGAS, C.; GOUVEIA, L.; GONÇALVES, M. Evaluation of microalgae as bioremediation agent for poultry effluent and biostimulant for germination. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102048, nov. 2021.
- WANG, J. et al. Ammonium Nitrogen Tolerant *Chlorella* Strain Screening and Its Damaging Effects on Photosynthesis. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 7 jan. 2019.
- WANG, J. et al. Domesticating *Chlorella vulgaris* with gradually increased the concentration of digested piggery wastewater to bio-remove ammonia nitrogen. **Algal Research**, v. 60, p.

102526, dez. 2021.

WANG, L. et al. Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 1174–1186, 24 out. 2010.

WU, Q. et al. Effect of phosphorus concentration and light/dark condition on phosphorus uptake and distribution with microalgae. **Bioresource Technology**, v. 340, p. 125745, nov. 2021.

YOU, Y. et al. Synthesized cationic starch grafted tannin as a novel flocculant for efficient microalgae harvesting. **Journal of Cleaner Production**, v. 344, p. 131042, abr. 2022.