

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

LUCIANI DE LIZ SOUZA

**CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* EM EFLUENTE DE TERMO-
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO CONDICIONADA A DIFERENTES
TEMPERATURAS**

LAGES

2024

LUCIANI DE LIZ SOUZA

**CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* EM EFLUENTE DE TERMO-
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO CONDICIONADAS A DIFERENTES
TEMPERATURAS.**

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

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Farias Neves

Coorientador: Prof. Dr. Everton Skoronski

LAGES

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Souza, Luciani de L.

Cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango condicionada a diferentes temperaturas. / Luciani de Liz Souza. -- 2024.

99 p.

Orientador: Fábio de Farias Neves

Coorientador: Everton Skoronski

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Lages, 2024.

- 1. Industria avícola. 2. Remoção de nutrientes. 3. Tempo de cultivo.
- 4. Proteínas. 5. Lipase. I. Neves, Fábio de Farias. II. Skoronski, Everton. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. IV. Título.

LUCIANI DE LIZ SOUZA

**CULTIVO DA MICROALGA *Parachlorella kessleri* EM EFLUENTE DE TERMO-
PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO CONDICIONADA A DIFERENTES
TEMPERATURAS**

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

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Farias Neves
Coorientador: Prof. Dr. Everton Skoronski

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio de Farias Neves
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membros:

Prof. Dra. Viviane Trevisan
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Prof. Dr. Leonardo Rubi Rorig
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Lages, 30 de Julho de 2024.

A minha mãe Aparecida de Souza com todo
respeito, admiração e amor!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida, quando achava que não iria conseguir, sentir Sua presença para me fortalecer e continuar o caminho.

A minha família, minha mãe Aparecida com toda sua simplicidade me dava conselhos valiosos e meus irmãos Gilmar e Luani, cada um influenciou minha vida de diferentes maneiras e ser quem sou. Agradeço a paciência e por entender minha ausência. Amo-os!

A Uniplac por ter permitido continuar meus estudos e trabalhar. Aos meus amigos da biblioteca, me apoaram e viram minhas correrias no início do mestrado, em especial a Silvania por sempre permitir as mudanças no meu horário e pelo apoio e confiança; o senhor Benildo por incentivar a continuar e ser meu amigo para todas as horas; a Larissa por compartilhar longas conversas sobre a nossa profissão, a vida e apoio mútuo em continuar a estudar; a Alexandra e pequena Isabella (já é uma moça) por me dar alegria em conviver com elas, Maria Eduarda por emprestar gentilmente seu notebook devido aos problemas técnicos e; ao Sergio (*in memoria*) pelo exemplo de profissional, assumir todas as atitudes e apoio em continuar. Agradeço por ter convivido com vocês!

Ao meu orientador Dr. Fábio de Farias Neves, por ter me aceitado no mestrado e oportunidade em aprender sobre o cultivo de microalgas, não foi fácil, mas com muita paciência e persistência o senhor conseguiu que eu saísse da minha zona de conforto para que pudesse realmente aprender, estingando a pensar (sair da caixa) e ser uma profissional. Ao meu coorientador Dr. Everton Skoronski, pelas orientações, permitir realizar as análises no laboratório e aprender ser uma profissional competente.

Aos professores da banca avaliadora, professor Leonardo R. Rorig e professora Viviane Trevisan, pelas correções, contribuições e sugestões sobre a dissertação!

Ao pessoal do Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas (LCBA) e a empresa AlgaBloom por terem compartilhado seus conhecimentos sobre o mundo das algas, ao Rafael pela paciência e compartilhar suas experiências na academia e conhecimento, as “meninas das algas” Ana Flávia, Isadora, Fran, Natalia, Amanda e Ana Carolina pela paciência e risadas durante minha estadia no laboratório e, ao Ricardo que me atorou mais tempo e via minhas angustias, me passou seu conhecimento com paciência, comprometimento e responsabilidade ao trabalho e pelas longas conversas aleatórias e divertidas nas idas e vindas para área externa do laboratório. Aos seguranças

do Ceres, que sempre me atenderam corretamente e pela atenção e preocupação ao ficar no laboratório até mais tarde.

Ao pessoal do Laboratório de Tratamento de Água e resíduos (Labtrat) e a empresa Alga&nzyme por ter paciência e compartilhado suas experiências na rotina das análises laboratoriais. A Thaís por ter ensinado a realizar todas as análises dos experimentos e compartilhar seu conhecimento sobre as algas e, sua competência no laboratório. Ao Luiz pela ajuda técnica com as incubadoras. As gêmeas Laura e Isabella pela ajuda nas análises do primeiro experimento. A Pamela por preocupar e ajudar na rotina do laboratório, e é admirável sua competência para exercer as rotinas no laboratório. A Georgia por compartilhar nossas percepções com nossos experimentos e da vida acadêmica.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais por compartilhar seus conhecimentos e vivência na academia, em especial as professoras Viviane e Cláudia em que aprendi admirar as profissionais que são.

A Universidade do Estado de Santa Catarina por oferecer ensino de excelência e gratuito e assim proporcionar o desenvolvimento dos cidadãos.

Ao professor Gilmar com toda sua gentileza, permitiu que utilizasse o laboratório para o experimento. A professora Indianara com toda disposição em ajudar, cedeu material para executar o experimento. Ao professor Luiz Milette, que com suas aulas me fez voltar a questionar e pesquisar.

A empresa Vossko do Brasil que cedeu os efluentes para execução do experimento.

A Uniedu – Pós-Graduação por ter concedido a bolsa de estudo para que pudesse dedicar ao mestrado. Ao convênio com a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC), 2023TR401, 2023TR274 e 2023TR302.

A todos professores com quem tive a oportunidade de aprender e conviver, vocês foram essenciais para minha formação como pessoa e profissional.

A todas as pessoas que estiveram direta ou indiretamente envolvidos nesta etapa da minha vida.

Muito obrigada a todos!!

“(...) a consciência da complexidade nos faz compreender que jamais poderemos escapar da incerteza e que jamais poderemos ter um saber total: A totalidade é a não-verdade”.

(Morin, E., 2005, p.69).

RESUMO

A indústria avícola é uma atividade fundamental para a economia mundial, mas durante o processamento das aves há geração de efluentes que necessitam ser tratados adequadamente. Em cada etapa do processamento das aves, eles apresentarão características e concentrações distintas de nitrogênio e fósforo, tornando-os singulares e complexos. Atualmente, busca-se otimizar processos para uma gestão sustentável e economia circular dos efluentes. Nessa perspectiva, as microalgas realizam simultaneamente o polimento delas e sintetizam biomoléculas de valor para vários setores industriais. No entanto, o cultivo de microalgas em efluentes estará suscetível às condições ambientais, como as variações da temperatura, que poderão impactar significativamente sua produtividade, bem como a eficiência do polimento dos efluentes. Assim, essa dissertação objetivou avaliar a influência da temperatura no cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em efluente de termo-processamento de carne de frango. No primeiro capítulo, foi realizada uma revisão bibliográfica com o software *Vosviewer* do efeito da temperatura no cultivo de microalgas em efluentes. Foram identificados 2.828 artigos e o termo *Biomass* obteve a maior força de *link* total e número de ocorrência, com 1,44% e 0,66%, respectivamente. Ressalta-se que a temperatura influenciará a produtividade e composição da biomassa, logo, necessita de estratégias para otimizar a operação e/ou prospectar espécies com maior plasticidade fenotípica a temperaturas. No segundo capítulo, foi avaliado o efeito da temperatura no cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em efluente de termo processamento de carne de frango, condicionado às temperaturas de 10 °C, 20 °C e 30 °C. Durante 13 dias de cultivo, analisou a eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo, teor proteico e atividade enzimática da lipase microalgal. Na temperatura de 20 °C e no 13º dia de cultivo, obteve-se a maior densidade óptica, produtividade da biomassa e remoção de fósforo, com $3,59 \pm 1$, $0,049 \pm 0,01$ g.L⁻¹ e 95,67%, respectivamente. E no sexto dia de cultivo, obtiveram-se 98,79% de remoção de amônia. O teor proteico e a atividade enzimática da lipase não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Ressalta-se que, o tempo de cultivo é fator significativo no polimento deste efluente, necessitando de estratégias para manter o crescimento, produtividade e eficiência de remoção de nutrientes pelas variações das temperaturas, como identificar faixa de temperaturas ótimas e extremas.

Palavras-chave: Industria avícola; Remoção de nutrientes; Tempo de cultivo; Proteínas; Lipase

ABSTRACT

The poultry industry is a fundamental activity for the global economy, but, during poultry processing, wastewater is generated that needs to be treated properly. At each stage of poultry processing, this wastewater will present distinct characteristics and concentrations of nitrogen and phosphorus, making them unique and complex. Currently, efforts are being made to optimize, processes for sustainable management and a circular economy of wastewater. In this perspective, microalgae simultaneously polish their wastewater and synthesize biomolecules, of value for several industrial sectors. However, microalgae cultivation in wastewater will be susceptible to environmental conditions, such as temperature variations, which can significantly affect their productivity and the efficiency of wastewater polishing. Thus, this dissertation aimed to evaluate the influence of temperature on microalgae cultivation of *Parachlorella kessleri* in wastewater from the thermal processing of chicken meat. In the first chapter, a literature review was conducted using the Vosviwer software to examine the effect of temperature on microalgae cultivation in wastewater. A total of 2,828 articles were found, and the term Biomass obtained the highest total link strength and number of occurrences, with 1.44% and 0.66%, respectively. It is noteworthy that temperature will influence the productivity and composition of biomass, therefore, strategies are needed to improve the operation and prospect species with greater phenotypic plasticity at temperatures. In the second chapter, the effect of temperature on the cultivation of the microalgae *Parachlorella kessleri* in effluent from a poultry meat processing plant, conditioned at temperatures of 10 °C, 20 °C, and 30 °C, was evaluated. During 13 days of cultivation, the efficiency of nitrogen and phosphorus removal, protein content, and enzymatic activity of microalgal lipase were analysed. At a temperature of 20 °C and on the 13th day of cultivation, the highest optical density, biomass productivity and phosphorus removal were obtained, with 3.59 ± 1 , 0.049 ± 0.01 g.L⁻¹ and 95.67%, respectively. And on the sixth day of cultivation, 98.79% of ammonia removal was obtained. The protein content and lipase enzymatic activity did not show statistical differences between the treatments. It should be noted that, the cultivation time is a significant factor in the polishing of this wastewater, requiring strategies to keep growth, productivity and nutrient removal efficiency through temperature variations, such as finding optimum and extreme temperature ranges.

Keywords: Poultry industry; Nutrient removal; Cultivation time; Proteins; Lipase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Fluxograma da delimitação da dissertação.....	21
Figura 02 - Fluxograma das aplicações das microalgas nos diferentes setores com os respectivos produtos que podem ser gerados.....	26
Figura 03 – Mapa da similaridade dos termos encontrados nas bases de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i> em seus respectivos clusters no software <i>Vosviewer</i> entre 2013 e 2023.....	34
Figura 04 - Aclimatação para o experimento. (a) Aclimatação no efluente com volume de 15L na sala de microbiologia; (b) Aclimatação da temperatura de 10°C na incubadora, (c)Aclimatação da temperatura de 20°C na incubadora; (d) Aclimatação da temperatura de 30°C na incubadora.....	53
Figura 05 – Representação gráfica das unidades experimentais nas incubadoras com suas respectivas temperaturas para o experimento com <i>P. kessleri</i> em efluente de termo processamento de carne de frango.....	54
Figura 06 - Parâmetro de crescimento e produtividade. (a) densidade celular e; (b) densidade óptica.....	61
Figura 07 - Biomassa seca obtida durante os 13 dias de experimento da <i>P. kessleri</i> em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão.....	64
Figura 08 - Parâmetros de qualidade da água monitorados no experimento. (a) pH; (b) Turbidez e; (c) Condutividade. As médias das unidades experimentais com seus respectivos desvios padrões.....	68
Figura 09 - Concentração inicial, do 6ºdia e final de PO ₄ ⁻³ no experimento com <i>P. kessleri</i> em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos e as letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas no tempo dos tratamentos.....	75
Figura 10 - Teor de proteínas inicial e final obtida do cultivo da <i>P. kessleri</i> em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatística com p>0,05.....	78

Figura 11 - Atividade enzimática da lipase da microalga *P. kessleri* cultivada em efluente de termo processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatística com $p>0,05$82

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Comparativo entre o método convencional e a ficorremediação no tratamento de efluentes.....	30
Tabela 02 - Representação dos termos que apresentaram a maior força total do link e número de ocorrência.....	35
Tabela 03 - Parâmetros físico-químico para análise de efluente com seus respectivos métodos da APA (2005)	52
Tabela 04 – Caracterização físico-química do <i>blend</i> de efluente do processamento de carne de frango utilizado para o experimento. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão.....	59
Tabela 05 - Parâmetros de crescimento da <i>P. kessleri</i> em efluente de processamento de carne de frango condicionadas a diferentes temperaturas, T10, T20 e T30. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas ($p>0,05$)	63
Tabela 06 - Eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo da <i>P. kessleri</i> cultivada em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos e as letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas no tempo dos tratamentos ($p>0,05$)	71
Tabela 07 - Teor proteico de espécies de microalgas cultivadas em efluente sob diferentes temperaturas. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatística com $p>0,05$	80
Tabela 08 - Identificação de lipases em diferentes microrganismos com suas respectivas atividades enzimática. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatística com $p>0,05$	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância;

APHA – *American Public Health Association*;

CONSEMA – Conselho Estadual do Meio Ambiente;

EABA – *European Algae Biomass Association*;

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*;

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia;

USDA – *United States Department of Agriculture*.

UFCCC - *United Nations Framework Convention on Climate Change*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	17
2	OBJETIVO GERAL	20
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3	DELIMITAÇÃO DA DISSERTAÇÃO	21
4	CAPÍTULO 1: EFEITO DA TEMPERATURA NO CULTIVO DE MICROALGAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.	22
4.1	RESUMO.....	22
4.2	ABSTRACT	22
4.3	INTRODUÇÃO	23
4.4	APLICAÇÕES AMBIENTAIS DAS MICROALGAS	25
4.5	MICROALGAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES.....	27
4.6	EFEITO DA TEMPERATURA NO CULTIVO DE MICROALGAS	31
4.7	CONCLUSÃO.....	36
4.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁGICAS	37
5	CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO POLIMENTO DE EFLUENTE DE TERMO PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO ATRAVÉS DO CULTIVO DA MICROALGA <i>Parachlorella kessleri</i>.	46
5.1	RESUMO.....	46
5.2	ABSTRACT	46
5.3	INTRODUÇÃO	47
5.4	MATERIAIS E MÉTODOS	50
5.4.1	Material biológico e Condições da cultura	50
5.4.2	Aclimatação prévia	50
5.4.3	Condições Experimentais	52
5.4.4	Delineamento Experimental	52
5.4.5	Parâmetros de crescimento e produtividade	54
5.4.6	Avaliação da remoção de nutrientes	55

5.4.7	Avaliação do teor proteico.....	56
5.4.8	Análise de atividade enzimática de lipase	56
5.4.9	Análise Estatística.....	57
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
5.5.1	Caracterização do blend do efluente	57
5.5.2	Crescimento e Produtividade	59
5.5.3	Parâmetros físicos do experimento.....	65
5.5.4	Remoção de Nutrientes: Nitrogênio	69
5.5.5	Remoção de Nutrientes: Fósforo	73
5.5.6	Teor de proteínas	76
5.5.7	Atividade enzimática da lipase	80
5	CONCLUSÃO.....	84
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

1 INTRODUÇÃO GERAL

As microalgas, são organismos fotossintetizantes, polifiléticas, com elevada plasticidade fenotípica e apenas 1% são conhecidas (Brasil *et al.*, 2017; Erbland *et al.*, 2020; Jebali *et al.*, 2022). Apresentam-se como multiplataforma, apta a fornecer matéria-prima para indústria, subsistência alimentar bem como para remediar efluentes, absorver metais, purificação de metano e captação de CO₂ (Chandra *et al.*, 2019). Devido a essas características, o cultivo de microalgas tornou-se uma atividade industrial em expansão, há previsão de que o mercado seja de US\$ 1,8 bilhões até 2028 (Meticulous Research; EABA, 2022). Além disso, cultivá-las poderá efetivar as diretrizes da economia circular, ao combinar processos eficientemente a partir do tratamento/polimento de efluentes com as microalgas (Souza *et al.*, 2023).

Apesar do intenso e extenso interesse pelo cultivo das microalgas para tratar/polir efluentes, desde a metade do século XX elas são utilizadas em sistemas de lagoa de alta taxa nos Estados Unidos (Young, Taylor, Fallowfield, 2017). Devido apresentarem: (i) alta taxa de crescimento; (ii) sobrevivem em condições extremas; (iii) absorvem e assimilam eficientemente nitrogênio e fósforo; (iv) mantém a quantidade de oxigênio dissolvido entre as fases fotoquímica e química da fotossíntese; (v) podem resultar em economia de até 84% ao não utilizar água potável e 55% para nutrientes essenciais sintéticos, como nitrogênio e fósforo; (vi) ao incorporar microalgas em sistemas apenas bacterianos pode melhorar as taxas de nitrificação e; (vii) sua biomassa pode ser aplicada como biofertilizantes ou bioestimulantes, como alimento na aquicultura, bem como na produção de alimentos e biocombustíveis (Bhatt *et al.*, 2022; Ho *et al.*, 2018; Morillas-España *et al.*, 2021; Sanchez-Zurano *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2023).

Além do volume significativo, estima-se que sejam produzidos 380 bilhões de metros cúbicos anualmente no mundo de efluentes (Qadir *et al.*, 2020). Eles apresentam variações na sua composição e concentração, devido ao segmento que se origina, bem como o fluxo do processamento na indústria. Essas características, influenciarão como as microalgas se adaptaram a eles, consequentemente, a viabilidade em cultivá-las para o tratamento/polimento em determinado efluente. Dentre os efluentes, o da indústria avícola apresenta em sua composição alta carga orgânica e de nutrientes como nitrogênio e fósforo, sólidos suspensos, metais e, estima-se uma vazão de 21 milhões de metros cúbicos ao ano (Vladic *et al.*, 2023). Dependendo do segmento avícola, ser de abate, corte, residual do processo ou de processamento de carne, haverá variações

nas concentrações dos compostos presentes no efluente. Logo, faz necessário compreender a relação entre as características do efluente e a espécie microalgal que será utilizada no tratamento/polimento. Assim, identificar a viabilidade e eficiência de remoção de nutrientes, bem como obter a máxima produtividade microalgal.

Contudo, tanto as características do efluente como a espécie microalgal serão afetadas pelas condições ambientais, como a temperatura. Deve-se ao fato, de os tratamentos/polimentos de efluentes convencionais serem baseados em métodos biológicos, como os microrganismos. Eles são suscetíveis a qualquer variação nas temperaturas, logo comprometerá a sua eficiência. Ao elevar a temperatura de 28 °C, poderá diminuir a eficiência de remoção de nitrogênio, fósforo e demanda química e biológica de oxigênio. Acima de 40 °C, as bactérias podem desaparecer. Ao reduz a temperatura de 15 °C, poderá haver comprometimento do crescimento bacteriano. E abaixo de 5 °C, poderá não haver o processo de nitrificação (Ren *et al.*, 2021; Sathya *et al.*, 2023; Sheik; Seepana; Ambati, 2022). Por sua vez, as microalgas também são suscetíveis as variações da temperatura, haja vista que elas são organismos poiquilotérmicos (não controlam e necessitam adaptar as temperaturas do meio) (Huner *et al.*, 2023; Ishikawa-Ishiwata *et al.*, 2023)

Consequentemente, as variações das temperaturas levarão as microalgas ao estresse térmico. Elas irão responder e adaptar para manter uma condição térmica ótima e assim, preservar sua homeostase celular (Wu, Baumeister, Heimbucher, 2023). Ao ultrapassá-la, poderá ocorrer desativação e desnaturação enzimática. E ao diminuir a temperatura da condição térmica ótima, poderá reduzir a atividade enzimática e fotossintética, ocorrer remodelação dos lipídios e, redução da fluidez da membrana (Jebali *et al.*, 2022; Jiang; Chen, 2000; Huner *et al.*, 2023; Mock; Valentin, 2004; Moore *et al.*, 2021). Além dos lipídios, as variações das temperaturas também afetarão as proteínas. São biomoléculas essenciais, por atuarem direta e indiretamente em todos os processos fisiológicos. Ao elevar a temperatura por períodos longos, haverá diminuição do teor proteico bem como, desnaturação ao romper as ligações não covalentes (Marzzoco; Torres, 2015; Pitawala *et al.*, 2023).

Por outro lado, essa capacidade em adaptar as variações da temperatura, pode ser algo promissor ao prospectar da sua biomassa lipases termoestáveis. A partir de microrganismos que, conseguem adaptar a amplas temperaturas, como as microalgas (Rabbani *et al.*, 2023). As lipases são biocatalizadoras com importantes aplicações biotecnológicas, por hidrolisar triglicerídeos em ácidos graxos e glicerol. Sendo utilizadas em detergentes, aditivos alimentares, na indústria

química, remediação ambiental e produtos farmacêuticos (Brasil *et al.*, 2017; Hamdan *et al.*, 2021). E projeta-se que o mercado de produção enzimática, atinja o valor de US\$ 16,9 bilhões em 2027 (Markets and Markets, 2022). Em estudos recentes, foram identificadas lipases nas microalgas *Scenedesmus* sp e *Desmodesmus* sp (Tang *et al.*, 2023) e, atividade enzimática da lipase na microalga *Parachlorella kessleri* (Primo, 2022). A microalga *Parachlorella kessleri*, destaca-se na biotecnologia de algas por sintetizar lipídios, luteína, proteínas, substâncias bioativas, carboidratos e antioxidantes (Beigbeder *et al.*, 2021; Manoyan *et al.*, 2022; Rathod *et al.*, 2023). Além destas características, ela é utilizada para tratar eficientemente efluente avícola (Vargas *et al.*, 2023), efluente de indústria de farinha e óleo de peixe (Viriato *et al.*, 2019), efluente municipal (Aketo *et al.*, 2020) e, efluente de suínos (Qu *et al.*, 2019).

Diante destes apontamentos, essa dissertação objetivou avaliar o cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango sob efeito de diferentes temperaturas. Ela está dividida em dois capítulos, sendo o capítulo 1 é uma revisão bibliográfica, sobre a importância do efeito da temperatura sobre o cultivo de microalgas em efluentes. E o capítulo 2, avaliou a microalga *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente de termoprocessamento de carne de frango, condicionada a diferentes temperaturas. Verificou-se o efeito na produtividade, remoção de nitrogênio e fósforo, o teor proteico e atividade enzimática da lipase.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da temperatura sobre o cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar levantamento bibliográfico da influência da temperatura no cultivo de microalga em efluentes;

Determinar a influência da temperatura no cultivo de *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango;

Verificar a eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo no cultivo de *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango condicionadas a diferentes temperaturas;

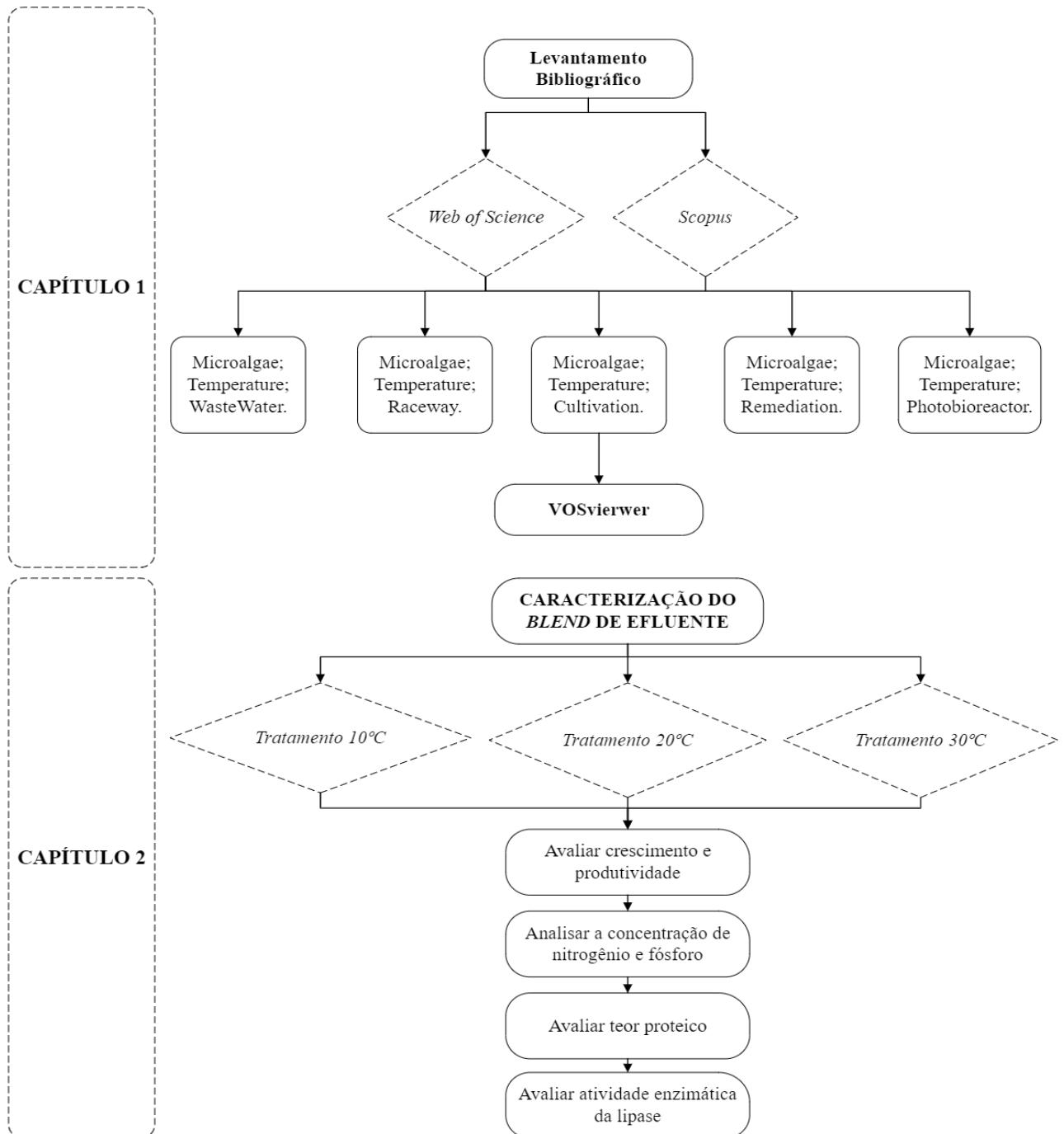
Determinar a influência da temperatura no teor proteico da *Parachlorella kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango;

Analizar atividade enzimática da lipase de *Parachlorella kessleri* cultivada em efluente de termo processamento de carne de frango condicionada a diferentes temperaturas.

3 DELIMITAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

A dissertação foi dividida em dois capítulos e elaborada conforme o fluxograma (Figura 01).

Figura 01 - Fluxograma da delimitação da dissertação.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4 CAPÍTULO 1: EFEITO DA TEMPERATURA NO CULTIVO DE MICROALGAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

4.1 RESUMO

As microalgas são organismos fotossintetizantes, acentuada plasticidade fenotípica, sintetizam uma ampla gama de metabólitos valiosos. Entretanto, como qualquer atividade industrial, requer otimização da cadeia produtiva, compreendendo as espécies cultivadas e, minimizando custos operacionais. Uma estratégia é cultivá-las em efluentes, como há décadas elas são utilizadas para tratar/polir e, simultaneamente geram uma biomassa que pode ser aplicada em diferentes setores industriais. Porém, há escassez de informações em obter o máximo de rendimento da biomassa em áreas externas, já que estará condicionada à variação da temperatura. Ela é uma variável que impacta significativamente o crescimento, produtividade da biomassa e seus metabólitos. Apresentando oscilações diárias, por frequência e local do cultivo. Diante disso, essa pesquisa objetivou realizar revisão bibliográfica do efeito da temperatura sobre o cultivo de microalgas em efluente. Nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus*, entre 2013 e 2023. Foram levantados 2.828 artigos, com 147 clusters. O termo *biomassa* obteve a maior força do total do *link* e número de ocorrência com, 1,44% e 0,06%, respectivamente. Independentemente do setor industrial, a biomassa microalgal será influenciada pela variação da temperatura. Ressalta-se que, estratégias para manter a produtividade microalgal sob estresse térmico se faz necessário. Poderá modelar o volume do *raceway* e, prospectar espécies que apresentem maior adaptabilidade as variações de temperaturas.

Palavras-chaves: Efluente; Biomassa; Produtividade microalgal; Estresse térmico..

4.2 Abstract

Microalgae are photosynthetic organisms with marked phenotypic plasticity that synthesize a wide range of valuable metabolites. However, like any industrial activity, they require optimization of the production chain, whether by understanding the species cultivated or by minimizing operating costs. One strategy is to cultivate them in wastewater, as they have been used for decades to treat/polish them and simultaneously generate biomass that can be applied in different industrial sectors. However, there is a lack of information on obtaining maximum biomass yield in outdoor areas, since it will be conditioned by temperature variations. This is a variable that significantly

impacts growth, biomass productivity and its metabolites, presenting daily fluctuations, by period and location of cultivation. Therefore, this research aimed to carry out a bibliographic review of the effect of temperature on microalgae cultivation in wastewater, in the *Web of Science* and *Scopus* databases between 2013 and 2023. A total of 2,828 articles were collected, with 147 clusters, and the term biomass obtained the greatest strength of the total link and number of occurrences with 1.44% and 0.06%, respectively. Regardless of the industrial sector, microalgal biomass will be influenced by temperature variations. It is noteworthy that strategies to maintain microalgal productivity under thermal stress are necessary, whether modelling the volume of the raceway or prospecting species that present greater adaptability to temperature variations.

Keywords: WasteWater; Biomass; Microalgal productivity; Thermal stress.

4.3 INTRODUÇÃO

As microalgas são caracterizadas como organismos fotossintetizantes, polifiléticas, que habitam ambientes aquáticos e terrestres, toleram amplas variações de temperatura, pH, salinidade e intensidade luminosa. E estima-se que, há entre 30.000 à 1.000.000 de espécies e, apenas 1% são conhecidas (Brasil *et al.*, 2017; Erbland *et al.*, 2020; Rumin *et al.*, 2020; Salbitani; Carfagna, 2021). Devido à diversidade e ao número de espécies, as microalgas podem ser aplicadas (*i*) diretamente na remediação, biofertilizantes e na alimentação, (*ii*) extração de biomoléculas para biocombustível, enzimas ou nutracêuticas; (*iii*) como plataforma de expressão e edição genética (Vingiani *et al.*, 2019). Logo, elas são consideradas plataformas emergentes de vários compostos, na qual podem ser uma biorrefinaria de microalgas (Chandra *et al.*, 2019; Li-Beisson; Beisson; Riekhof, 2015). Consequentemente, há uma expectativa que o mercado de microalgas atinja US\$ 1,8 bilhões até 2028, com taxa de crescimento anual composto (CAGR) de 10,3% previsto para o período de 2021 a 2028 (Meticulous Research; EABA, 2022). E estima-se que, anualmente a produção mundial de microalgas seja em torno de 56.456 toneladas, sendo 5.000 toneladas produzidas de microalgas do gênero *Chlorella* (FAO, 2021; Fernandez *et al.*, 2021).

Desde sua descoberta em 1890 por Beijerinck, em que identificou a espécie-tipo *Chlorella vulgaris* (Champenois; Marfaing; Pierre, 2015), o gênero *Chlorella* vem sendo amplamente pesquisado. Para as revisões sistemáticas das espécies pertences ao gênero, bem como identificar suas biomoléculas para cultivá-las massivamente. Há registros que no início da década de 60, elas já eram cultivadas comercialmente no Japão e em Taiwan. Além do interesse em suas biomoléculas,

elas possuem alta produtividade e eficiência na absorção de nutrientes. Essas características, tornaram-nas uma espécie-alvo para cultivo massivo e, atualmente, elas são cultivadas em larga escala no Japão, Estados Unidos e Alemanha (Dragone, 2022; Chew *et al.*, 2018). Ademais, essas características despertaram o interesse em utilizá-las também para o tratamento/polimento de diferentes efluentes. Exercendo um duplo papel, absorver e assimilar nutrientes enquanto sua biomassa, pode ser aplicada em diversos setores biotecnológicos (Amaral *et al.*, 203; Morillas-España *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

Devido a essas características, a espécie *Chlorella vulgaris* é a mais explorada para o tratamento de efluentes (Pooja *et al.*, 2022). No entanto, há outros gêneros próximos filogeneticamente do gênero *Chlorella*, como o gênero *Parachlorella* (Ota *et al.*, 2023). Que apresentam características semelhantes e, podem tratar/polir diferentes efluentes. Uma das espécies deste gênero é a *Parachlorella kessleri*, ela foi analisada para tratar: efluente municipal (Aketo *et al.*, 2020), efluente de indústria de farinha e óleo de peixe (Viriato *et al.*, 2019); efluente avícola (Vargas *et al.*, 2023); efluentes de suínos (Qu *et al.*, 2019). Além da significativa eficiência para tratar/polir esses efluentes, sua biomassa apresenta ampla variedade de compostos. Com alto teor de lipídios, luteína, proteínas, substâncias bioativas, carboidratos e antioxidantes (Beigbeder *et al.*, 2021; Rathod *et al.*, 2023). Logo, essas características da microalga *Parachlorella kessleri*, destacam-na na biotecnologia de algas (Manoyan *et al.*, 2022).

Em contrapartida, para prospectar esses compostos da sua biomassa, para torná-lo um produto competitivo no mercado. Necessita-se buscar alternativas para aumentar sua produtividade em larga escala e, aproximar dos valores teóricos máximos. Solucionando três questões-chaves: (*i*) identificar e produzir cepas robustas de crescimento rápido em amplas condições de cultivo, (*ii*) fotobioreatores ideais para otimizar a produção da cepa selecionada, (*iii*) sistema produtivo adaptável sob diferentes condições ambientais (Barceló-Villalobos *et al.*, 2019). As condições ambientais são um dos fatores-chave para obter um alto rendimento da biomassa microalgal, que influenciará a espécie escolhida e no design, tipo e modo operacional dos fotobioreatores. Dentre as condições ambientais que irão influenciar o cultivo de microalgas, estão a luz e a temperatura. Esses parâmetros podem oscilar sazonal e diariamente, levando a condições mais ou menos favoráveis. E são dependentes da localização do cultivo (Dias *et al.*, 2023).

Devido às acentuadas variações nas temperaturas globais, bem como as inerentes flutuações diárias, a temperatura tem influência direta na taxa fotossintética, no tamanho celular e na

composição bioquímica (Levina; Romagnoli, 2024). Logo, torna-se necessário identificar e compreender o impacto da temperatura sobre a microalga, que consequentemente irão afetar sua produtividade. Além disso, ao cultivá-las em efluentes haverá também o efeito da temperatura sobre a absorção e assimilação de nutrientes. Portanto, poderá afetar a eficiência de remoção. Diante destes fatos, esta pesquisa objetivou realizar levantamento bibliográfico do efeito da temperatura sobre o cultivo de microalga em efluente. Abordando três eixos-chave: aplicações ambientais das microalgas; microalgas no tratamento de efluentes e o efeito da temperatura no cultivo de microalgas.

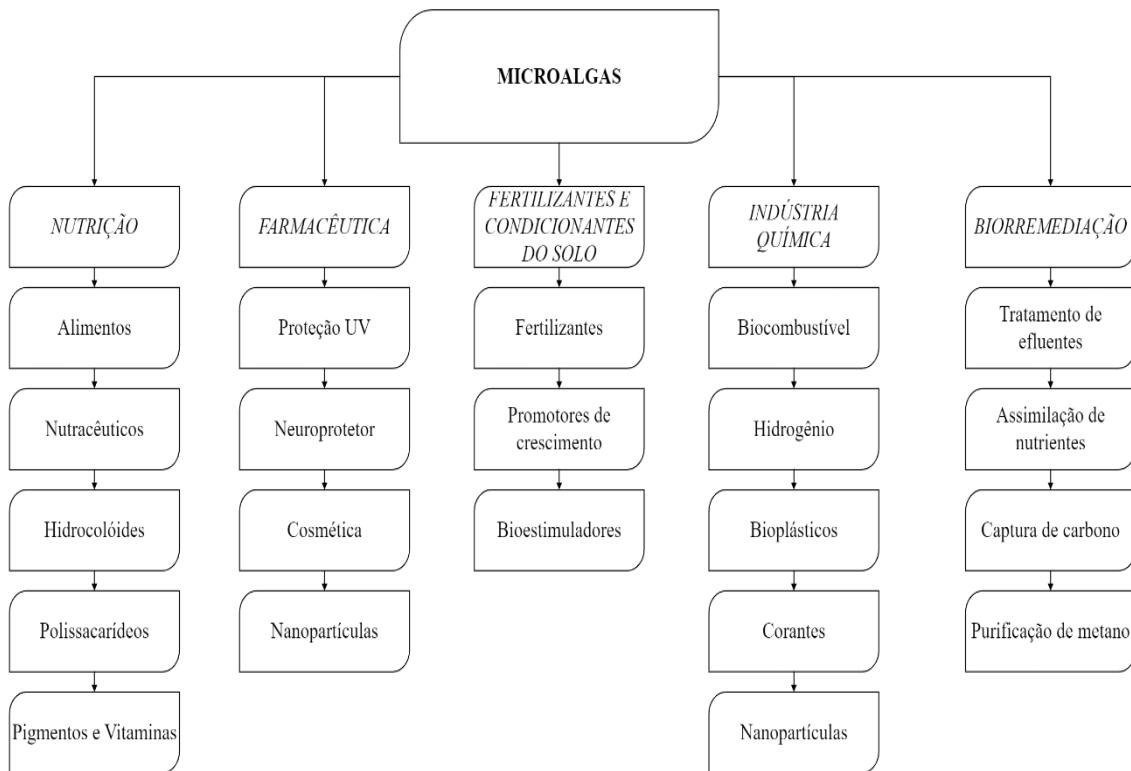
4.4 APLICAÇÕES AMBIENTAIS DAS MICROALGAS

As microalgas são organismos fotossintetizantes com ampla diversidade morfológica, fisiológica e metabólica. Atualmente, há um intenso interesse em explorar a diversidade de compostos sintetizados por elas, para prospectá-los em diferentes setores industriais. Apesar deste interesse, há décadas ocorrem pesquisas com as microalgas. Sendo que, vários processos fisiológicos e metabólicos foram elucidados com as espécies modelos, como o gênero *Chlorella*. Contudo, ainda há um número significativo de espécies que não foram identificadas. Que podem ser exploradas industrialmente, para maximizar o real potencial biotecnológico destes organismos. Consequentemente, produzirá novos produtos e serviços (Venâncio *et al.*, 2020; Mayfield; Burkart, 2021). Devido à sua capacidade de ocupar e de se adaptar há diferentes locais, as microalgas sintetizam ampla versatilidade de biomoléculas, tornando-as uma plataforma biotecnológica emergente (Li-Beisson; Beisson; Riekhof, 2015; Fields *et al.*, 2021).

A partir destas características, é possível subdividir a aplicação das microalgas por setor industrial (Figura 02). Cada um dos eixos pontua alguns produtos, que podem ser adquiridos da biomassa microalgal. No setor da *alimentação*, há registros arqueológicos que datam de 14.000 anos, em que as algas eram utilizadas como fonte de alimento para diferentes culturas (Dillehay *et al.*, 2009; Torres-Tiji; Fields; Mayfield, 2020). Além da fonte como alimento direto, podem extrair biomoléculas como, proteínas, lipídios e carboidratos. E utilizá-las como atividades antioxidantes, anticancerígenas e anti-hipertensivas (Gouda *et al.*, 2022). Semelhante ao setor de alimentação, o setor *farmacêutico* busca por novas fontes para medicamentos. A partir da biomassa microalgal, obtém-se uma fonte rica em compostos bioativos como, vacinas, hormônios, anticorpos, regulador imunológico e medicamentos (Khavari *et al.*, 2021). Por apresentar de 30 a 80% de teor e conteúdo

proteico da biomassa (Geada *et al.*, 2021; Janssen; Wijffels; Barbosa, 2022), podem utilizá-las como proteínas recombinantes para medicamentos. Elas são seguras, há mínimas alterações pós-traducionais na glicosilação logo, facilitará sua compatibilidade com o hospedeiro (Banerjee; Ward, 2022).

Figura 02 - Fluxograma das aplicações das microalgas nos diferentes setores com os respectivos produtos que podem ser gerados.



Fonte: Adaptado de Ansilago (2021); Chandra *et al.*, (2019).

Outro setor com crescimento significativo é o de *fertilizantes e estimuladores*. Por apresentar uma biomassa rica em polissacarídeos, fitohormônios, poliaminas, lipídios e aminoácidos livres. Especificamente as algas verdes, podem ser utilizadas como fertilizantes a partir do processo de mineralização dos nutrientes (Cordeiro *et al.*, 2022; Musetsho *et al.*, 2021). No setor *químico*, podem obter biocombustível e matéria-prima na produção de biocimento. Este último subproduto, foi identificado a partir da biomineralização de diatomáceas, que simultaneamente contribuirá com a descarbonização da indústria cimenteira (Olonade *et al.*, 2023; Williams, 2022).

Já o setor de *biorremediação*, apresenta-se como um amplo campo sendo explorado. Além de assimilar eficientemente os compostos presentes nos efluentes, sua biomassa poderá ser aplicada nos setores mencionados. Ressalta-se que, aplicar a biomassa na alimentação e farmacêutica, necessita-se ser devidamente validados, quanto a sua biossegurança. Consequentemente, poderá inviabilizar o uso da biomassa microalgal cultivada em efluentes, já que efluentes podem apresentar compostos recalcitrantes, como metais pesados. Além da possibilidade em remediar efluentes com microalgas, elas podem biofixar dióxido de carbono (CO₂). Como, por exemplo, a espécie *Chlamydomonas acidophila* que poderá tolerar altas concentrações e apresentar simultaneamente elevada concentração de lipídios (Neves *et al.*, 2018).

4.5 MICROALGAS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES

Estima-se que anualmente, sejam produzidos 380 milhões de metros cúbicos de efluentes no mundo e os principais contaminantes são: nitrogênio (N) com 16.600 milhões de toneladas, fósforo (P) com 3 milhões de toneladas e, potássio (K) com 6.300 milhões de toneladas (Qadir *et al.*, 2020). Sendo que, o N e P são considerados contaminantes preocupantes por causarem a eutrofização dos corpos hídricos, alterando o ecossistema e uma ameaça à saúde pública (Zhang; Li; Ho, 2021). Logo, precisam ser reduzidos suas concentrações, antes do lançamento nos corpos receptores (Mohsenpour *et al.*, 2021). Os métodos convencionais para tratar esses contaminantes visam minimizar as concentrações de N, P orgânicos, a demanda química de oxigênio (DQO) e demanda bioquímica de oxigênio (DBO) do efluente no tratamento secundário (Rout *et al.*, 2021). Entretanto, dependendo das características do efluente, ainda haverá elevadas concentrações de N, P inorgânico, apresentando adicionalmente compostos recalcitrantes e metais pesados. Logo, as estações de tratamento de efluente (ETE) necessitam acoplar um tratamento terciário para polimento que: (*i*) sejam de baixo custo operacional; (*ii*) apresentem alta eficiência e; (*iii*) possibilitem recuperar recursos advindos dos efluentes (Chrispim; Scholz; Nolasco, 2019; Zagklis; Bampos, 2022). Sendo assim, utilizar o cultivo de microalgas para o polimento de efluente pode ser uma alternativa.

As microalgas destacam-se como uma alternativa promissora no tratamento/polimento de efluentes, considerando-as um método sustentável (De Souza *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2022). Entretanto, como qualquer outro método de tratamento/polimento de efluente, as microalgas terão fatores desfavoráveis para seu uso. Logo há necessidade de ampliar o conhecimento, identificando

esses fatores para efetivá-las no tratamento/polimento de efluentes. Para elucidar, adaptou-se a tabela 01 dos autores Moondra; Jariwala; Christian (2021), apresentando os principais tópicos ao comparar os métodos convencionais usuais¹ com a ficorremediação². Agrupando seus tópicos em *Operacional* e *Sistema*.

Operacional. Ao iniciar um planejamento de uma estação de tratamento/polimento de efluentes, devem ser considerados alguns fatores para executá-los, como mensurar os custos a curto, médio e a longo prazo para operá-la. Os métodos convencionais são caracterizados por exigir energia, espaço e capital elevada (Mondal *et al.*, 2022), dependendo do volume que será tratado, o espaço necessário será elevado. Além disso, fluxo que o efluente passará na estação e suas etapas de tratamento, necessitará equipamentos e recursos humanos específicos. Poderá utilizar produtos químicos como, cloreto férrico e sulfato de alumínio. A adição de produtos químicos, poderão elevar os custos da estação, bem como poderá restringir o destino do residual do tratamento.

Em contrapartida, a ficorremediação é apontada como método sustentável. Entretanto, para implementá-la e operá-la, também haverá custo para espaço, energia, equipamentos e recursos humanos específicos. Como esse método é baseado em um microrganismo, logo estará condicionado que ele se adapte as características do efluente. E estará suscetível as variáveis ambientais. Consequentemente, torna esse método complexo, devido ao fato que necessitará identificar o fluxo e o sistema adequado para o efluente. Isolar e minimizar os efeitos das variáveis ambientais e, atender os parâmetros requeridos pelas legislações ambientais. Além disso, o fato de não requerer produtos químicos e aeração (já que haverá a fotossíntese), a ficorremediação elevará seus custos, na separação e no processamento da biomassa. O que torna promissor em tratar/polir efluentes com ela, é a possibilidade em acoplá-la a estação e, aplicar o conceito de biorrefinaria e de economia circular.

¹ Processos físico-químicos e biológicos na remoção de metais pesados e compostos orgânicos, em níveis primário e secundário (Silva, 2023).

² Utilizam algas para remover e/ou minimizar contaminantes (Danouche; Ghachtouli; Arroussi, 2021).

Tabela 01 - Comparativo entre o método convencional e a ficorremediação no tratamento de efluentes.

FICORREMEDIAÇÃO	OPERACIONAL	TRATAMENTO CONVENCIONAL
SISTEMA		
Abordagem sustentável; Requer que a espécie se adapta as características do efluente e ambientais; Menor custo operacional e de manutenção; Gasto energético na separação e processamento da biomassa; Pode acoplar com tratamento convencional; Aeração natural para remoção dos poluentes a partir da fotossíntese; Sem adição de produtos químicos;		Abordagem de alto custo e desatualizada; Necessário operadores qualificados para o sistema de tratamento; Maior custo operacional e de manutenção; Gasto energético elevado; O sistema é um processo específico logo requer acoplar a outras técnicas; Aeração mecânica: método artificial para remoção de poluentes; Adiciona produtos químicos para o tratamento;
Altamente eficiente na remoção de nutrientes, carga inorgânica e metais pesados; Possibilidade de aplicar a mesma espécie para tratar efluentes industriais, municipais e agrícolas Colabora com fixação de CO ₂ através da fotossíntese; Remoção de nutrientes, pigmentos, redução de DQO e DBO em uma única etapa; Geração menor de lodo; Baixa taxa de A/M *		Remoção baixa de carga inorgânica de nutrientes e de metais pesados; Cada efluente apresenta tratamento específico; Emissão de gases de efeito estufa no processo de tratamento; Várias etapas envolvidas para remover cada parâmetro;
A biomassa gerada pode ser um subproduto de valor agregado; Se houver planejamento e aproveitamento da biomassa microalgal, não há poluição secundária.		Alta geração de lodo; Alta taxa de A/M; O lodo gerado poder ser uma fonte adicional de poluição, se não houver gerenciamento correto; O sistema convencional é associado a poluição secundária.

* A/M: Alimento /Microrganismo

Fonte: Adaptado de Moondra; Jariwala; Christian (2021).

Sistema. Além do fator operacional, a escolha de um sistema eficiente tem relevância significativa na estação. Seus resultados, devem atender obrigatoriamente as legislações ambientais vigentes. Uma das principais características da ficorremediação é a capacidade que as microalgas têm em assimilar os poluentes presentes nos efluentes, como nitrogênio, fósforo e metais pesados, em compostos essenciais, para o seu desenvolvimento e metabolismo. Além disso, por serem organismos fotossintetizantes que fixam CO₂, poluente que dependendo da estação é um passivo ambiental elevado. Poderá corroborar para minimizar seus efeitos. Em síntese, o método

convencional apresenta uma dinâmica de fragmentar os poluentes, para reduzir sua concentração. E assim, obter a máxima eficiência e, atender as legislações ambientais. Já com a ficorremediação, os processos são simultâneos e, irão reduzir eficientemente a concentração dos contaminantes.

Por outro lado, dependendo do volume e do segmento do efluente, suas concentrações brutas, turbidez e cor elevada. Poderão ser tóxicas e obstruir a passagem da luz para as microalgas consequentemente, inviabilizará o tratamento/polimento com a ficorremediação. Logo, as etapas presentes nos métodos convencionais, poderão propiciar que as microalgas consigam desempenhar adequadamente sua função no tratamento/polimento. Sendo assim, acoplar a ficorremediação em estação com métodos convencionais, poderá obter uma eficiência de remoção de contaminantes significativa. Além disso, a presença das microalgas poderá incrementar o tratamento secundário, ao promover uma melhora funcional significativa da comunidade bacteriana. Consequentemente, aumentar as taxas nitrificantes (Wang *et al.*, 2023).

Como mencionado, a biomassa microalgal poderá ser direcionada como matéria-prima para diferentes setores industriais. Devido a este fato, a ficorremediação é alternativa sustentável e, corroborará para efetivar o conceito de economia circular. Em contrapartida, o método convencional, haverá geração de lodo e, estes são direcionados para aterros. Logo, há apenas transferência do resíduo do tratamento do efluente, que necessitará que sejam tratados seu percolado. Além disso, o lodo gerado necessita que a relação alimento e microrganismo (A/M) estejam em equilíbrio. Haja vista que, ao obter uma alta taxa de A/M, poderá elevar a produção de ácidos graxos voláteis. Inibirá a atividade das arqueias metanogênicas e, assim a produção de metano (Liu *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Atualmente, para minimizar os efeitos do lodo e evitar direcioná-los para aterros. Há alternativas como, ser direcionado a compostagem (Chen *et al.*, 2024) e, para produção de tijolo ecológico (Zat *et al.*, 2021).

Independentemente do comparativo entre eles, identificando os fatores positivos e desfavoráveis. Há estudos com diferentes efluentes e espécies de microalgas, que apresentam elevadas eficiências de remoção de nutrientes. A microalga *Navicula venata*, foi cultivada em efluente primário municipal e, obtiveram-se remoções de 96,9% de nitrogênio, de 99,8% para fósforo e 95,7% de demanda química de oxigênio (Sisman-Aydin, 2022). A microalga *Scenedesmus* sp., foi cultivada em efluente de aterro sanitário diluído e, obteve-se remoção de 69% de nitrato e 87% de fósforo (De Souza *et al.*, 2021). Já a microalga *Chlorella vulgaris*, foi cultivada em efluente têxtil, com remoção de 97% de descoloração e 82% de demanda química de oxigênio (Javed *et al.*,

2022). Além destas espécies, a microalga *P. kessleri* também vem sendo testada para tratar efluentes de cervejarias, agroindustriais e industriais (Beigbeder *et al.*, 2021; Primo, 2022; Sharma *et al.*, 2019) Esses estudos, constatam a capacidade das microalgas em tratar/polir diferentes efluentes. Entretanto, necessita-se buscam detalhar os processos de absorção e assimilação dos compostos, identificar a relação entre a espécie-efluente, os condicionantes que irão influenciar a eficiência dos sistemas de tratamento/polimento de efluentes na ficorremediação.

4.6 EFEITO DA TEMPERATURA NO CULTIVO DE MICROALGAS

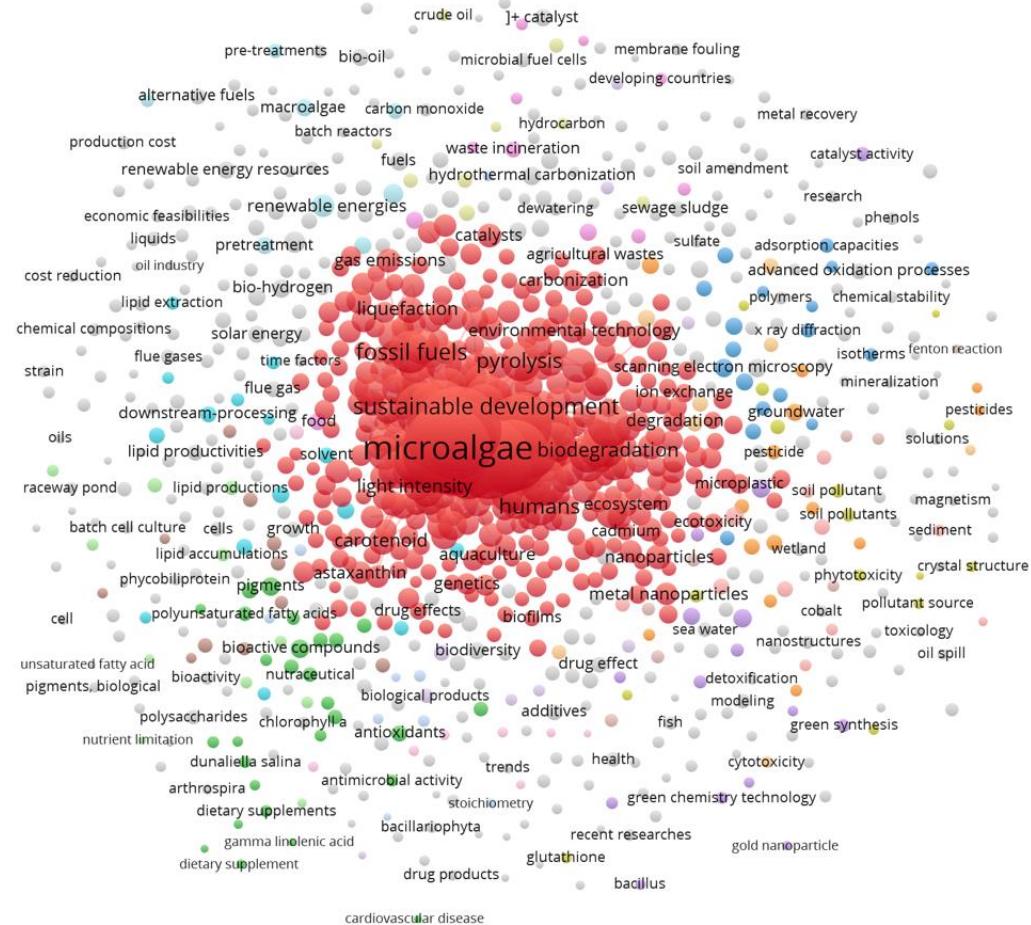
O uso de microalgas em sistemas de lagoas de alta taxa (tanques raceway) para tratamento de efluentes iniciou-se em meados do século XX, quando foram desenvolvidos estes sistemas pela Universidade da Califórnia (Young, Taylor, Fallowfield, 2017). Desde então, os sistemas evoluíram. Entretanto, mesmo com o histórico de uso e ser uma alternativa eficiente para tratar/polir efluentes, há fatores condicionantes que podem impactar o cultivo de microalgas e, que ainda necessitam compreensão. Haja vista, que a maioria das pesquisas são realizadas sob condições controladas. Logo há uma lacuna em compreender as limitações do crescimento microalgal em áreas externas com efluentes, sob efeito de variáveis ambientais (Bhatt *et al.*, 2022; Morillas-España *et al.*, 2021; Zurano, *et al.*, 2021). Elas podem apresentar oscilações de temperatura, radiação solar e fotoperíodo, que irão afetar os processos fotossintéticos, bem como a taxa de crescimento microalgal (Xu *et al.*, 2021). Para enfrentar e minimizar esses efeitos, as microalgas dispõem de acentuada capacidade de adaptar-se as variáveis ambientais, essa característica é denominada de plasticidade fenotípica.

Dentre as variáveis ambientais com efeitos significativos nas microalgas, a temperatura apresentará oscilações diárias e sazonais. Ela afetará diretamente a taxa de crescimento, bem como a composição bioquímica microalgal e a absorção de nutrientes (Subhash *et al.*, 2014; Teng *et al.*, 2020). As microalgas conseguem adaptar as variações e extremas temperaturas, essa característica está relacionada à origem da espécie (Chokshi *et al.*, 2015; Salbitani; Carfagna, 2021). A microalga *Chlorella vulgaris* é uma espécie-tipo que também é intensamente pesquisada para tratar efluentes. Sua faixa de temperatura ótima é de 15 °C a 20 °C, sendo condizente com a faixa de temperatura de 15 °C a 30 °C que maioria das microalgas são cultivas (Gao *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2020). Entretanto, uma cepa da *Chlorella vulgaris* apresentou características de crescer em temperaturas moderadas e tolerância temperaturas baixas (Levina; Romagnoli, 2024). Ela foi coletada na região

norte da Suécia, com períodos longos de temperaturas baixas ao ano. Logo, essa cepa possibilitará cultivá-la para tratar/polir efluentes em locais com temperaturas baixas.

Devido ao efeito e à relevância da temperatura sobre as culturas de microalgas, foi realizada uma revisão bibliográfica, para identificar quais os principais tópicos que permeiam este assunto. Selecionou as bases de dados *Web of Science* e *Scopus* entre 2013 e 2023, refinando para artigos de pesquisa e revisão e, em inglês. Os 50 artigos mais citados em cada ano, base de dados e grupo de palavras-chave foram selecionados. Esses grupos são: (i) “*microalgae*” and “*temperature*” and “*wastewater*”; (ii) “*microalgae*” and “*temperature*” and “*raceway*”; (iii) “*microalgae*” and “*temperature*” and “*cultivation*”; (iv) “*microalgae*” and “*temperature*” and “*remediation*” e; (v) “*microalgae*” and “*temperature*” and “*photobioreactors*”. Obteve-se 4.910 artigos, que posteriormente foram inseridos na plataforma Zotero, para excluir os artigos duplicados. Ao final, obteve-se 2.828 artigos. Eles foram adicionados na plataforma *Vosviewer*, para correlacioná-los e obter cluster. Utilizou-se apenas os termos que constavam citados ≥ 5 vezes, entre os artigos (Figura 03).

Figura 03 - Mapa da similaridade dos termos encontrados nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus* em seus respectivos clusters no software *Vosviewer* entre 2013 e 2023.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foram identificados, 1.000 termos em 147 clusters. Para evitar a sobreposição dos termos similares, com as palavras-chave “*microalgae*” e “*temperature*”, foram agregados e obtiveram-se suas médias. Os termos que estavam no singular, no plural ou separados, também foram agregados. Assim, obteve-se a média tanto do número de ocorrência como, da força total do link destes termos. O termo *Biomass* obteve a maior força total do link com, 13.053 e ocorrência com, 527 (Tabela 02). Representando, 1,44% e 0,06%, respectivamente. Como mencionado, a temperatura é uma variável que influencia significamente o crescimento e a composição bioquímica da biomassa microalgal. Logo, ao prospectar a aplicação da sua biomassa, em diferentes setores industriais a

partir do tratamento/polimento de efluente, deve-se compreender que a produtividade da biomassa irá oscilar pela dependência à temperatura.

Tabela 02 - Representação dos termos que apresentaram a maior força total do link e número de ocorrência.

TERMO	FORÇA TOTAL DO LINK	OCORRÊNCIA
<i>Biomass</i>	13053	527
<i>Microorganisms</i>	9415	397
<i>Biofuel**</i>	8552	322
<i>Wastewater treatment</i>	7734	287
<i>Metabolism</i>	7597	251
<i>Waste water management</i>	6436	164
<i>Waste water**</i>	6294	186
<i>Biotechnology</i>	5601	193
<i>Nitrogen</i>	5452	165
<i>Bioremediation</i>	5437	178
<i>Chemistry</i>	5376	179
<i>Carbon dioxide</i>	5349	230
<i>Procedures</i>	4821	145
<i>Biofuel production</i>	4593	149
<i>pH</i>	4573	133
<i>Biodiesel</i>	4419	218
<i>Microalgae*</i>	4270	158
<i>Lipid</i>	4023	133
<i>Biomass production</i>	3976	106
<i>Bioreactor</i>	3895	111
<i>Pollutant removal</i>	3875	114
<i>Anaerobic digestion</i>	3851	132
<i>Carbon</i>	3818	134
<i>Controlled study</i>	3764	113
<i>Water pollutant</i>	3750	104
<i>Adsorption</i>	3643	140
<i>Temperature*</i>	964	29

Fonte: Elaborado pela autora (2024)

*Representa a média dos termos similares de microalga (microalgae, microalga, algae, micro-algae, algal-growth, alga, green alga, algal cell culture, microalgae cultivation, microalgal biomass, microalgal cultivation, algal culture, algal biomass e algal cultivation) e temperatura (temperature, temperature effect, environmental temperature, temperature sensitivy, high temperature, low temperature, hot temperature, water temperature, temperature dependence);

**União dos termos iguais de biocombustível (biofuel e biofuels) e efluente (waste water e wasterwater).

A dependência das microalgas pela temperatura, apresentará níveis distintos sobre a biomassa microalgal. Poderá alterar tanto a síntese das biomoléculas e metabólitos, bem como no

rendimento total da biomassa. Cada espécie microalgal, apresentará uma faixa de temperatura ótima, e mantê-las em áreas externas é difícil devido suas variações sazonais e diárias (Rodríguez-Miranda *et al.*, 2022). Logo, seu efeito sobre a biomassa incide no fato, da cepa microalgal adaptar as temperaturas em que são condicionadas. Devido ao fato delas serem organismos poiquilotérmicos (do grego “*poikilo*” = variado e “*therme*” = calor), não apresentam capacidade de manter a temperatura interna e, necessitam adaptar-se as condições do meio. E assim, preservar a homeostase celular (Huner *et al.*, 2023; Ishikawa-Ishiwata *et al.*, 2023; Wu, Baumeister, Heimbucher, 2023). As variações da temperatura levarão as microalgas ao estresse, e seu sistema tenderá a neutralizá-lo, dependendo do nível de desequilíbrio ocasionado pela temperatura. Elas realizarão ações de: (i) regulação: a célula tentará manter a homeostase no estresse inicial regulando seu sistema biológico; (ii) aclimatação: quando o nível de estresse ocasionado persistir a célula tentará equilibrar seu sistema biológico e voltar a homeostase; (iii) adaptação: se o estresse condicionado a célula estabilizar por longos períodos, ela apresentará um novo fenótipo (Borowitzka, 2018; Giordano, 2013).

Essa adaptação que altera o fenótipo, é denominada de plasticidade fenotípica. Que permite um organismo lidar com a variável ambiental, sendo subdividida em adaptativa, desadaptativa e neutra (Ghalambor *et al.*, 2007; Leung *et al.*, 2023). As microalgas apresentam acentuada plasticidade fenotípica logo, torna essa característica relevante para seu cultivo. Já que determinará como a produtividade da biomassa e bioproduto alvo sintetizado, se comportará com as variações da temperatura (Jebali *et al.*, 2022). Na literatura, há estudos significativos em que identificaram, como a temperatura alterou o fenótipo de diferentes espécies de microalgas. Essas alterações, poderão afetar a produtividade da biomassa em diferentes níveis. Desde a taxa de transferência de CO₂ e O₂, a solubilidade do meio, processos enzimáticos e modulação da composição e estrutura metabólica. Até à morte da microalga, ao degradar as proteínas e danos oxidativos progressivos (Serra-Maia *et al.*, 2016). Dentre os níveis de alteração do fenótipo, está a composição dos lipídios. Eles mantêm a fluidez da membrana, modulando-o na composição da cadeia acila, em temperaturas baixas e altas. Essa característica é denominada de adaptação homeoviscosa (Huner *et al.*, 2023; Ishikawa-Ishiwata *et al.*, 2023; Shim *et al.*, 2020).

Contudo, essa modulação que os lipídios realizam representa uma fração do efeito da temperatura, sobre um bioproduto da biomassa microalgal. Assim, é necessário ampliar a compreensão, identificando os efeitos sobre a fotossíntese. A temperatura exerce influência sobre

a enzima ribulose-1,5-bifosfato (RubisCo), que atua tanto na fotossíntese como na fotorrespiração. Ela é dependente da relação O₂/CO₂, quando a relação for menor (alta concentração de CO₂ e baixa concentração de O₂) tenderá para a fotossíntese. Quando a relação for elevada (alta concentração de O₂ e baixa concentração de CO₂), tenderá a fotorrespiração (Masojídek *et al.*, 2021; Ras, Steyer, Bernard, 2013). No cultivo de microalgas, é necessário que a fotorrespiração seja inibida, para não reduzir o rendimento da biomassa (Costache *et al.*, 2013). Logo, a concentração de CO₂ será alta e de O₂ baixa e, poderá ser obtida ao elevar a temperatura do cultivo (Ras, Steyer, Bernard, 2013).

Como mencionado, cada espécie de microalga apresentará uma faixa de temperatura ótima, para seu cultivo. Consequentemente, espécies que são termotolerantes a altas temperaturas, serão propícias para inibir a fotorrespiração e, obter uma produtividade da biomassa considerável. Em um estudo, foi identificada que a microalga *Picochlorum* sp., uma espécie termotolerante, de um lago oceânico na Bonaire, em que as temperaturas são elevadas ao longo do ano. Essa espécie, apresentou o maior rendimento da concentração da biomassa, em temperatura de 47,5 °C (Barten *et al.*, 2021; Barten *et al.*, 2020). Entretanto, mesmo identificando as espécies que apresentam alta plasticidade fenotípica, devido à sua origem. Para manter crescimento e produtividade de biomassa sob as flutuações das temperaturas, requer outras estratégias. Ressalta-se que, faz necessário buscar, paralelamente, minimizar os efeitos da temperatura nas microalgas cultivadas em sistemas de tratamento/polimento de efluentes. Dentre as estratégias, podem ser consideradas utilizar, a modelagem matemática, para prever os efeitos da temperatura na cultura. Ou alterar a profundidade do raceway, ao longo das variações da temperatura ao ano (Rodríguez-Miranda *et al.*, 2022).

4.7 CONCLUSÃO

Cultivar microalgas, integrando-as aos sistemas de tratamento/polimento de efluentes, poderá ser uma estratégia promissora. Tanto do ponto de vista de diminuir os custos da produção, utilizando-o como meio de cultivo, como também por possibilitar aplicar o conceito de economia circular. Simultaneamente, poderá corroborar com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU (ODS), ao remediar um passivo ambiental e, produzirá uma biomassa microalgal que poderá ser aplicada como multiplataforma industrial;

O cultivo das microalgas em efluentes, é dependente das condições ambientais, sendo suscetível às variações da temperatura. Este parâmetro afetará significativamente as microalgas, seja no crescimento como na biomassa. Independentemente do setor industrial que será prospectada

a biomassa de microalgal, a temperatura influenciará o cultivo. Assim, identificar espécies tolerantes, desenvolver alternativas tecnológicas, prever e minimizar seus efeitos, é necessário para avançar e concretizar o potencial das tecnologias de polimento de efluentes através do cultivo de microalgas.

4.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁGICAS

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, 2020.

AMARAL, E. T. *et al.* Removal of organic contaminants in water bodies or wastewater by microalgae of the genus *Chlorella*: A review. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, p. 100476, 2023.

ANSILAGO, M. **Bioprospecção de microalgas para aplicação biotecnológica**. Tese. (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/bitstream/prefix/4611/1/Mo%CC%82nicaAnsilago.pdf> Acesso em: 15 dez.2022.

ARROJO, M. Á. *et al.* Potential of the microalgae *Chlorella fusca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) for biomass production and urban wastewater phytoremediation. **AMB Express**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2022.

BANERJEE, A.; WARD, V. Production of recombinant and therapeutic proteins in microalgae. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 78, p. 102784, 2022.

BARCELÓ-VILLALOBOS, M. *et al.* Variations of culture parameters in a pilot-scale thin-layer reactor and their influence on the performance of *Scenedesmus almeriensis* culture. **Bioresource Technology Reports**, v. 6, p. 190-197, 2019.

BARTEN, R. *et al.* Towards industrial production of microalgae without temperature control: The effect of diel temperature fluctuations on microalgal physiology. **Journal of biotechnology**, v. 336, p. 56-63, 2021.

BARTEN, R. JP; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. Bioprospecting and characterization of temperature tolerant microalgae from Bonaire. **Algal Research**, v. 50, p. 102008, 2020.

BEIGBEDER, J. *et al.* CO₂ capture and inorganic carbon assimilation of gaseous fermentation effluents using *Parachlorella kessleri* microalgae. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 50, p. 101581, 2021.

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

- BOROWITZKA, M. A. The ‘stress’ concept in microalgal biology—homeostasis, acclimation and adaptation. **Journal of applied phycology**, v. 30, p. 2815-2825, 2018.
- BRASIL, B. dos S. A. F. *et al.* Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. **Algal Research**, v. 25, p. 76-89, 2017.
- CHAMPENOIS, J.; MARFAING, H.; PIERRE, R. Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, p. 1845-1851, 2015.
- CHANDRA, R *et al.* Algal biorefinery: a sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource technology**, v. 278, p. 346-359, 2019.
- CHEN, S. *et al.* Application of hyperthermophiles in sludge composting: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 22, n. 1, p. 445-460, 2024.
- CHEW, K. W. *et al.* Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 91, p. 332-344, 2018.
- CHOKSHI, K. *et al.* Biofuel potential of the newly isolated microalgae *Acutodesmus dimorphus* under temperature induced oxidative stress conditions. **Bioresource technology**, v. 180, p. 162-171, 2015.
- CHRISPIM, M. C.; SCHOLZ, M.; NOLASCO, M. A. Phosphorus recovery from municipal wastewater treatment: Critical review of challenges and opportunities for developing countries. **Journal of environmental management**, v. 248, p. 109268, 2019.
- CORDEIRO, E. C. N. *et al.* Microalga biofertilizer triggers metabolic changes improving onion growth and yield. **Horticulturae**, v. 8, n. 3, p. 223, 2022.
- COSTACHE, T. A. *et al.* Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, p. 7627-7637, 2013.
- DANOUCHÉ, M.; EL GHACHTOULI, N.; EL ARROUSSI, H. Phycoremediation mechanisms of heavy metals using living green microalgae: physicochemical and molecular approaches for enhancing selectivity and removal capacity. **Helion**, v. 7, n. 7, 2021.
- DE SOUZA, L. *et al.* Biopolishing sanitary landfill leachate via cultivation of lipid-rich *Scenedesmus* microalgae. **Journal of Cleaner Production**, v. 303, p. 127094, 2021.
- DE SOUZA, M. H. B. *et al.* Soil application of microalgae for nitrogen recovery: a life-cycle approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 211, p. 342-349, 2019.

DIAS, R. R. *et al.* Mapping the performance of photobioreactors for microalgae cultivation. Part III: subtropical and mid-latitudes climate zone. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 98, n. 6, p. 1497-1519, 2023.

DILLEHAY, T. D. *et al.* Monte Verde: seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. **Science**, v. 320, n. 5877, p. 784-786, 2008.

DRAGONE, G. Challenges and opportunities to increase economic feasibility and sustainability of mixotrophic cultivation of green microalgae of the genus *Chlorella*. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 160, p. 112284, 2022.

ERBLAND, P. *et al.* Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. **Aquacultural engineering**, v. 90, p. 102103, 2020.

FOOD and AGRICULTURE ORGANIZATION of the UNITED NATIONS (FAO). Global seaweeds and microalgae production, 1950-2019: WAPI factsheet to facilitate evidence-based policy-making and sector management in aquaculture, 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cb4579en/cb4579en.pdf> Acesso em: 02 dez. 2023.

FERNÁNDEZ, F. G. A. *et al.* The role of microalgae in the bioeconomy. **New Biotechnology**, v. 61, p. 99-107, 2021.

FIELDS, F. J. *et al.* Annual productivity and lipid composition of native microalgae (Chlorophyta) at a pilot production facility in Southern California. **Algal Research**, v. 56, p. 102307, 2021.

GAO, B. *et al.* The growth, lipid accumulation and adaptation mechanism in response to variation of temperature and nitrogen supply in psychrotrophic filamentous microalga *Xanthonema hormidioides* (Xanthophyceae). **Biotechnology for Biofuels and Bioproducts**, v. 16, n. 1, p. 12, 2023.

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

GHALAMBOR, C. K. *et al.* Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. **Functional ecology**, v. 21, n. 3, p. 394-407, 2007.

GIORDANO, M. Homeostasis: an underestimated focal point of ecology and evolution. **Plant Science**, v. 211, p. 92-101, 2013.

GOSWAMI, R. K.; AGRAWAL, K.; VERMA, P. Phycoremediation of nitrogen and phosphate from wastewater using *Picochlorum* sp.: A tenable approach. **Journal of Basic Microbiology**, v. 62, n. 3-4, p. 279-295, 2022.

GOUDA, M. *et al.* Microalgae Bioactive Carbohydrates as a Novel Sustainable and EcoFriendly Source of Prebiotics: Emerging Health Functionality and Recent Technologies for Extraction and Detection. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022.

HAMDAN, S. H. *et al.* Thermostable lipases and their dynamics of improved enzymatic properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 1-26, 2021

HÜNER, N. PA *et al.* Photosynthetic adaptation and multicellularity in the Antarctic psychrophile, *Chlamydomonas priscuii*. **Algal Research**, p. 103220, 2023.

ISHIKAWA-ISHIWATA, Y. *et al.* Growth characteristics and fatty acids of the thermotolerant green alga *Desmodesmus* sp. isolated from a freshwater puddle in Ibaraki, Japan. **Plankton and Bentos Research**, v. 18, n. 2, p. 74-83, 2023.

JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. Microalgae based production of single-cell protein. **Current opinion in biotechnology**, v. 75, p. 102705, 2022.

JAVED, F. *et al.* Real textile industrial wastewater treatment and biodiesel production using microalgae. **Biomass and Bioenergy**, v. 165, p. 106559, 2022.

JEBALI, A. *et al.* Trait drift in microalgae and applications for strain improvement. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 108034, 2022.

JIANG, Y.; CHEN, F. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalgae *Cryptothecodium cohnii*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, p. 613-617, 2000.

KHAVARI, F. *et al.* Microalgae: therapeutic potentials and applications. **Molecular biology reports**, v. 48, n. 5, p. 4757-4765, 2021.

KIRAN, M. T.; BHASKAR, M. V.; TIWARI, A. Phycoremediation of eutrophic lakes using diatom algae. **Lake Sciences and Climate Change**, p. 103-115, 2016.

LEUNG, C. *et al.* Phenotypic plasticity evolves at multiple biological levels in response to environmental predictability in a long-term experiment with a halotolerant microalga. **Plos Biology**, v. 21, n. 3, p. e3001895, 2023.

LEVINA, B.; ROMAGNOLI, F. Microalga *Chlorella vulgaris* 211/11j as a promising strain for low temperature climate. **Journal of Applied Phycology**, p. 1-8, 2024.

LI-BEISSON, Y.; BEISSON, F.; RIEKHOF, W. Metabolism of acyl-lipids in *Chlamydomonas reinhardtii*. **The Plant Journal**, v. 82, n. 3, p. 504-522, 2015.

LIU, Y. *et al.* The ratio of food-to-microorganism (F/M) on membrane fouling of anaerobic membrane bioreactors treating low-strength wastewater. **Desalination**, v. 297, p. 97-103, 2012.

MANOYAN, J. *et al.* Growth characteristics, biohydrogen production and photochemical activity of photosystems in green microalgae *Parachlorella kessleri* exposed to nitrogen deprivation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 38, p. 16815-16823, 2022.

MASOJÍDEK, J. *et al.* Variables governing photosynthesis and growth in microalgae mass cultures. **Processes**, v. 9, n. 5, p. 820, 2021.

MARZZOCO, A. **Bioquímica básica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

MAYFIELD, S.; BURKART, M. The algae revolution 2.0: the potential of algae for the production of food, feed, fuel and bioproducts—why we need it now. **The Biochemist**, v. 43, n. 6, p. 34-38, 2021.

METICULOUS RESEARCH; EABA. Europe Microalgae Market by Type (*Spirulina*, *Chlorella*, *Nannochloropsis*), Category (Organic), Production Technique (Ponds, Fermenters, PBR), Distribution Channel (B2C, B2B), Application (Nutraceuticals, Food & Beverages), and Geography - Forecast to 2030. Disponível em: <https://www.meticulousresearch.com/product/europe-microalgae-market-5491> Acesso em: 25 nov. 2023.

MOCK, T.; VALENTIN, K. Photosynthesis and cold acclimation: molecular evidence from a polar diatom. **Journal of Phycology**, v. 40, n. 4, p. 732-741, 2004.

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

MONDAL, S.; BERA, S.; MISHRA, R.; ROY, S. Redefining the role of microalgae in industrial wastewater remediation. **Energy Nexus**, p. 100088, 2022.

MOONDRA, N.; JARIWALA, N. D.; CHRISTIAN, R. A. Integrated approach of phytoremediation in wastewater treatment: An insight. **Water Conserv. Manag**, v. 5, n. 1, p. 8-12, 2021.

MORILLAS-ESPAÑA, A. *et al.* Annual production of microalgae in wastewater using pilot-scale thin-layer cascade photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 6, p. 3861- 3871, 2021.

MUSETSHO, P. *et al.* Valorization of poultry litter using *Acutodesmus obliquus* and its integrated application for lipids and fertilizer production. **Science of The Total Environment**, v. 796, p. 149018, 2021.

NEVES, F. N. *et al.* Carbon biofixation and lipid composition of an acidophilic microalga cultivated on treated wastewater supplied with different CO₂ levels. **Environmental technology**, 2018.

OLONADE, K. A. *et al.* Chemistry as a knowledge base for the development of sustainable cementitious materials. **African Journal of Chemical Education**, v. 13, n. 2, p. 116-136, 2023.

OTA, S. *et al.* The taxonomic and physiological studies of *Parachlorella kimitsuensis* sp. nov. (Trebouxiophyceae) show high ammonium tolerance. **Algal Research**, v. 71, p. 103054, 2023.

PITAWALA, S. *et al.* Variation of the photosynthesis and respiration response of filamentous algae (*Oedogonium*) acclimated to averaged seasonal temperatures and light exposure levels. **Algal Research**, v. 74, p. 103213, 2023

POOJA, K. *et al.* Cost-effective treatment of sewage wastewater using microalgae Chlorella vulgaris and its application as bio-fertilizer. **Energy Nexus**, v. 7, p. 100122, 2022.

PRIMO, T. A. R. C. **O cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* como alternativa para a remoção de nitrogênio de efluente de indústria de processamento de frango.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 2022.

QADIR, M. *et al.* Global and regional potential of wastewater as a water, nutrient and energy source. In: Natural resources forum. Oxford, UK: **Blackwell Publishing Ltda**, 2020. p. 40-51.

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, 2019.

RABBANI, G. *et al.* Structural features, temperature adaptation and industrial applications of microbial lipases from psychrophilic, mesophilic and thermophilic origins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 225, p. 822-839, 2023.

RAS, M.; STEYER, Jean-Philippe; BERNARD, O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. **Reviews in environmental science and bio/technology**, v. 12, n. 2, p. 153-164, 2013.

RATHOD, J. P. *et al.* Trehalose phosphate phosphatase overexpression for the mitigation of high-light induced stress in *Parachlorella kessleri*. **Algal Research**, v. 72, p. 103121, 2023.

RODRÍGUEZ-MIRANDA, E. *et al.* A seasonal simulation approach for culture depth influence on the temperature for different characterized microalgae strains. **Biotechnology Journal**, v. 17, n. 9, p. 2100489, 2022.

ROUT, P. R. *et al.* Nutrient removal from domestic wastewater: A comprehensive review on conventional and advanced technologies. **Journal of Environmental Management**, v. 296, p. 113246, 2021.

RUMIN, J. *et al.* A bibliometric analysis of microalgae research in the world, Europe, and the European Atlantic area. **Marine drugs**, v. 18, n. 2, p. 79, 2020.

SALBITANI, G.; CARFAGNA, S. Ammonium utilization in microalgae: A sustainable method for wastewater treatment. **Sustainability**, v. 13, n. 2, p. 956, 2021.

SATHYA, R. *et al.* Towards sustainable wastewater treatment by biological methods—A challenges and advantages of recent technologies. **Urban Climate**, v. 47, p. 101378, 2023.

SERRA-MAIA, Rui *et al.* Influence of temperature on *Chlorella vulgaris* growth and mortality rates in a photobioreactor. **Algal research**, v. 18, p. 352-359, 2016.

SHARMA, A. K.; PARUL; THIYAM, G. 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, 2019.

SHEIK, A. G.; SEEPANA, M. M.; AMBATI, S. R. A model-based approach to study the effect of temperature in plant-wide biological wastewater treatment plants. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 44, n. 3, p. 182-190, 2022.

SHIM, Sung Jin *et al.* Repeated-batch production of omega-3 enriched biomass of *Chlorella sorokiniana* via calcium-induced homeoviscous adaptation. **Bioresource technology**, v. 303, p. 122944, 2020.

SILVA, J. A. Wastewater treatment and reuse for sustainable water resources management: a systematic literature review. **Sustainability**, v. 15, n. 14, p. 10940, 2023.

SISMAN-AYDIN, G. Comparative study on phytoremediation performance of three native microalgae for primary-treated municipal wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, v. 28, p. 102932, 2022.

SONG, Y. *et al.* The promising way to treat wastewater by microalgae: Approaches, mechanisms, applications and challenges. **Journal of Water Process Engineering**, v. 49, p. 103012, 2022.

SOUZA, L.L. *et al.* Análise bibliométrica das aplicações ambientais das microalgas: uma revisão. **Revista Latinoamericana Ambiente e Saúde**, v. 5, n. 3 (especial), p. 382-389, 2023.

SUBHASH, G. V. *et al.* Temperature induced stress influence on biodiesel productivity during mixotrophic microalgae cultivation with wastewater. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 789-793, 2014.

TANG, D. Y. Y. *et al.* Investigation and screening of mixed microalgae species for lipase production and recovery using liquid biphasic flotation approach. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 142, p. 104646, 2023.

TENG, S. Y. *et al.* Microalgae with artificial intelligence: A digitalized perspective on genetics, systems and products. **Biotechnology advances**, v. 44, p. 107631, 2020.

TORRES-TIJI, Y.; FIELDS, F. J.; MAYFIELD, S. P. Microalgae as a future food source. **Biotechnology advances**, v. 41, p. 107536, 2020.

VARGAS, L. B. *et al.* Application of a tannin-based coagulant for harvesting *Parachlorella kessleri* microalgae cultivated in chicken meat thermal processing wastewater. **Aquaculture International**, v. 32, n. 1, p. 461-476, 2024.

VENANCIO, H. C.; CELLA, H.; LOPES R.G.; DERNER, R. B. Surface-to-volume ratio influence on the growth of *Scenedesmus obliquus* in a thin-layer cascade system. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 2, p. 821-829, 2020.

VINGIANI, G. M. *et al.* Microalgal enzymes with biotechnological applications. **Marine Drugs**, v. 17, n. 8, p. 459, 2019.

VIRIATO, C. *et al.* Cultivation of the microalgae *Parachlorella kessleri* using wastewater from a fishmeal & oil industry and its application for nitrogen removal. **Rev Latinoam Hiperte**, v. 10, p. 1-12, 2019.

VLADIĆ, J. *et al.* Application of green technology to extract clean and safe bioactive compounds from *Tetradesmus obliquus* biomass grown in poultry wastewater. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2397, 2023.

WANG, Q. *et al.* Microalgae can promote nitrification in poultry-processing wastewater in the presence and absence of antimicrobial agents. **ACS ES&T Engineering**, v. 3, n. 4, p. 568-579, 2023.

WANG, S. *et al.* Assessing the potential of *Chlorella* sp. for treatment and resource utilization of brewery wastewater coupled with bioproduct production. **Journal of Cleaner Production**, v. 367, p. 132939, 2022.

WILLIAMS, S. L. **Use of siliceous and calcareous microalgae to decarbonize cement production.** Tese. Faculty of the graduate school of the University of Colorado, 2022. Disponível em:

<https://www.proquest.com/openview/71e4a0e968d2cc44062ee573193b4436/1?pqorigsite=gscholar&cbl=18750&diss=y> Acesso em: 15 dez.2022.

WU, G.; BAUMEISTER, R.; HEIMBUCHER, T. Molecular mechanisms of lipid-based metabolic adaptation strategies in response to cold. **Cells**, v. 12, n. 10, p. 1353, 2023.

XU, K. *et al.* The impact of seasonal variations about temperature and photoperiod on the treatment of municipal wastewater by algae-bacteria system in lab-scale. **Algal research**, v. 54, p. 102175, 2021.

YOUNG, P.; TAYLOR, M.; FALLOWFIELD, H. J. Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. **World journal of microbiology and biotechnology**, v. 33, p. 1-13, 2017.

ZAGKLIS, D. P.; BAMPOS, G. Tertiary wastewater treatment technologies: A review of technical, economic, and life cycle aspects. **Processes**, v. 10, n. 11, p. 2304, 2022.

ZAT, T. *et al.* Potential reuse of sewage sludge as a raw material in the production of eco-friendly bricks. **Journal of Environmental Management**, v. 297, p. 113238, 2021.

ZHANG, C.; LI, S.; HO, S. Converting nitrogen and phosphorus wastewater into bioenergy using microalgae-bacteria consortia: a critical review. **Bioresource Technology**, v. 342, p. 126056, 2021.

ZHANG, Z. *et al.* Elucidating temperature on mixotrophic cultivation of a *Chlorella vulgaris* strain: Different carbon source application and enzyme activity revelation. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123721, 2020.

ZURANO, A. S. *et al.* Modelling of photosynthesis, respiration, and nutrient yield coefficients in *Scenedemus almeriensis* culture as a function of nitrogen and phosphorus. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 105, n. 19, p. 7487-7503, 2021.

5 CAPÍTULO 2: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO POLIMENTO DE EFLUENTE DE TERMO PROCESSAMENTO DE CARNE DE FRANGO ATRÁVES DO CULTIVO DA MICROALGA *PARACHLORELLA KESSLERI*.

5.1 RESUMO

Os efluentes da indústria avícola, mesmo após o tratamento, apresentam acentuadas concentrações de nitrogênio e fósforo, que necessitam de um polimento para atender às legislações ambientais. As microalgas apresentam significativa capacidade de polir efluentes, simultaneamente sua biomassa sintetiza biomoléculas de alto valor. No entanto, o cultivo de microalgas estará suscetível às variações da temperatura, que influenciarão a produtividade e a eficiência de remoção de nutrientes. Este estudo objetivou avaliar a influência da temperatura no polimento de efluente de termo processamento de carne de frango através do cultivo da microalga *Parachlorella kessleri*. Condicionou-o a três temperaturas (10 °C, 20 °C e 30 °C) em triplicatas, durante 13 dias de experimento. Avaliou-se o crescimento, produtividade, eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo, teor proteico e atividade enzimática da lipase. A temperatura de 20 °C obteve a maior densidade celular, maior densidade óptica e produtividade da biomassa com 3.738,33 cel./mL 104, $3,59 \pm 1$ e $0,049 \pm 0,01$ g.L.d⁻¹, respectivamente. O teor proteico e atividade enzimática da lipase não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Ao sexto dia de cultivo, obteve-se uma eficiência de remoção de amônia de 98,79% e ao 13º dia de cultivo obteve 95,67% de remoção para fósforo. A microalga *Parachlorella kessleri* atingiu os limites máximos exigidos pelas legislações ambientais para nitrogênio e fósforo sob a temperatura de 20 °C. Ressalta-se que, para ampliar a compreensão do cultivo das microalgas para o polimento de efluentes, devem considerar o tempo de cultivo. E para minimizar o estresse térmico, identificar a faixa de temperatura ótima e as extremas toleráveis pela microalga.

Palavras-chave: Industria avícola; Remoção de nutrientes; Estresse térmico; Tempo de cultivo; Proteína; Lipase.

5.2 ABSTRACT

Poultry industry wastewater, even after treatment, presents high concentrations of nitrogen and phosphorus, which require polishing to comply with environmental legislation. Microalgae have a significant ability to polish wastewater, while their biomass synthesizes high-value biomolecules.

However, microalgae cultivation will be susceptible to temperature variations, which will influence productivity and nutrient removal efficiency. This study aimed to evaluate the influence of temperature on the polishing of wastewater from a thermal processing plant for chicken meat through the microalgae cultivation of *Parachlorella kessleri*. It was conditioned to three temperatures (10 °C, 20 °C and 30 °C) in triplicates, during 13 days of experiment. Growth, productivity, nitrogen and phosphorus removal efficiency, protein content and lipase enzymatic activity were evaluated. The temperature of 20 °C obtained the highest cell density, optical density and biomass productivity with 3,738.33 cells/mL 104, 3.59 ± 1 and 0.049 ± 0.01 g.L.d⁻¹, respectively. The protein content and enzymatic activity of lipase showed no statistical differences between treatments. On the sixth day of cultivation, an ammonia removal efficiency of 98.79% was obtained and on the 13th day of cultivation, it obtained 95.67% removal for phosphorus. The microalgae *Parachlorella kessleri* reached the largest limits required by environmental legislation for nitrogen and phosphorus at a temperature of 20 °C. It should be noted that, to broaden the understanding of microalgae cultivation for wastewater polishing, the cultivation time must be considered. To minimize thermal stress, find the best temperature range and the extremes tolerable by the microalgae.

Keywords: Poultry industry; Nutrients of removal; Thermal stress; Cultivation time; Protein; Lipase.

5.3 INTRODUÇÃO

A indústria avícola é considerada uma das principais atividades econômicas alimentícias mundiais e estima-se que, em 2024, a produção seja de 103,3 milhões de toneladas de carne, estando os Estados Unidos, como principais produtores mundiais, seguidos pelo Brasil (USDA, 2023). Consequentemente, há geração de passivos ambientais como o consumo de água potável, previsto o uso de 26L no processamento por ave (Dada *et al.*, 2023). Logo, há geração de efluentes que precisam ser devidamente analisados e tratados, eles são constituídos por carga orgânica, nutrientes, sólidos suspensos e metais, que apresentam altas concentrações de demanda química e biológica de oxigênio, nitrogênio e fósforo (Plumber; Kiepper, 2011; Vladic *et al.*, 2023). Por sua vez, os tratamentos dos efluentes de processamento de aves podem ser usuais, como lagoas de estabilização e reatores anaeróbios, aeróbios e anóxicos (Manjunath; Yakshith; Meghashree, 2023).

ou como tratamentos avançados por ultrafiltração (Dada *et al.*, 2023). Cada sistema apresenta vantagens e desvantagens, entretanto atualmente há interesse não apenas em tratar os efluentes, mas praticar uma gestão sustentável, considerando o potencial de recuperar recursos advindos dos efluentes (Chrispim; Scholz; Nolasco, 2019).

Corroborando com esta perspectiva, as microalgas apresentam-se como uma alternativa promissora no tratamento de efluentes, podem polir e remover os compostos, assimilando-os como nutrientes para processos biológicos essenciais. Nos últimos 50 anos avançaram gradualmente como plataforma biotecnológica (Fields *et al.*, 2021), dentre as vantagens em utilizar as microalgas estão: (i) alta taxa de crescimento; (ii) sobrevivem em condições extremas; (iii) absorvem e assimilam eficientemente nitrogênio (N) e fósforo (P); (iv) mantém a quantidade de oxigênio dissolvido entre as fases fotoquímica e química da fotossíntese; (v) podem resultar em economia de até 84% ao não utilizar água potável e 55% para nutrientes essenciais sintéticos como nitrogênio e fósforo; (vi) ao incorporar microalgas em sistemas apenas bacterianos pode melhorar as taxas de nitrificação e; (vii) sua biomassa pode ser aplicada como biofertilizantes ou bioestimulantes, na aquicultura, na produção de alimentos e biocombustíveis (Bhatt *et al.*, 2022; Ho *et. al.*, 2018; Morillas-España *et al.*, 2021; Sanchez-Zurano *et al.*, 2021; Yang *et. al.*, 2011; Wang *et al.*, 2023).

A partir destas características, atualmente há várias pesquisas sendo desenvolvidas para determinar a eficiência de tratar diferentes efluentes de processamento de aves, com distintas espécies de microalgas (Adekanmi *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2019; Perera *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2020; Viegas *et al.*, 2021). Dentre as espécies, a microalga *Parachlorella kessleri* vem destacando-se como uma promissora espécie no tratamento de efluentes, e simultaneamente sintetizam biomoléculas de alto valor como: polifenóis (Isquierdo; Coral; Benavies, 2024), butanol (Bauenova *et al.*, 2024), produção de carboidratos (Qu *et al.*, 2019), corrente elétrica e propriedades exoeletrogênicas (Petrova *et al.*, 2024), biohidrogênio (Manoyan *et al.*, 2019), produtora lipídica (Song *et al.*, 2023) e, como produtora de enzimas como fosfatase (Rathod *et al.*, 2023) e galactolipase (Hashiro *et al.*, 2018). Além de otimizar os sistemas produtivos e a alta demanda para vários setores industriais, prospectar lipases de microalgas poderá ser uma alternativa promissora. Sendo possível obtê-las de uma fonte sustentável, cultivando-as em efluentes haverá redução considerável dos custos de produção (Brasil *et al.*, 2017; Vingiani *et al.*, 2019). Ademais, possibilitará ampliar a compreensão da sua síntese e ação, para aumentar a produção de lipídios para biocombustíveis (Kong *et al.*, 2018; Nomaguchi *et al.*, 2018).

Todavia, a maioria destas pesquisas foram executadas em condições controladas. Ao transferir os cultivos para ambientes externos, haverá influência das condições ambientais do local de cultivo de microalgas, como temperatura. Dependendo dos locais de cultivo, haverá interferência das flutuações sazonais e diárias da temperatura, bem como sua duração, frequência e severidade dos períodos de temperaturas elevadas e baixas (Barati *et al.*, 2018; Novoveska *et al.*, 2023). A temperatura exerce influência significativa no crescimento e na composição bioquímica, como carboidratos, lipídios, proteínas e enzimas, sendo que cada espécie de microalga apresentará uma temperatura ideal (Salama *et al.*, 2018; Silva, 2022). Dentre esses componentes da biomassa microalgal, as proteínas que apresentam o maior percentual, com 30 a 80% (Janssen; Wijffels; Barbosa, 2022), são fundamentais por participarem direta ou indiretamente de todos os processos celulares. E a temperatura exerce influência sobre elas, por manter a conformação estrutural proteíca e atividade enzimática, ao submetê-las a temperaturas elevadas por períodos longos, o teor proteico irá diminuir, como irá ocorrer a desnaturação proteica ao romper as ligações não covalentes (Marzzoco; Torres, 2015; Pitawala *et al.*, 2023).

Ademais, a temperatura também influenciará como as microalgas absorverão e assimilarão os nutrientes, consequentemente a eficiência do tratamento do efluente (Xu *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Por sua vez, a temperatura também exercerá fator-chave na gestão dos efluentes nas estações de tratamento de efluentes (ETE), influenciando tanto os processos químicos como os biológicos. Quando ela estiver operando em uma temperatura ótima, haverá melhora nos processos de conversão, elevando a eficiência de remoção, bem como viabilizará alguns processos do tratamento (Alisawi, 2020; Sathya *et al.*, 2023). Haja vista que, 60% da remoção dos compostos é realizada pela comunidade bacteriana no tratamento biológico e, a variação da temperatura impactará delas. Logo, ao elevar a temperatura acima de 40 °C, a maioria das bactérias poderá desaparecer. E ao diminuir a temperatura abaixo de 15 °C, poderá diminuir o crescimento bacteriano, inviabilizará algumas funções vitais, como a nitrificação e assim perderá a eficiência no tratamento (Ren *et al.*, 2021; Sathya *et al.*, 2023). Sendo assim, a temperatura não apenas influenciará o tratamento/polimento do efluente com microalgas, mas também a composição dele, trazendo impactos significativos na operação da ETE.

Diante destes fatos, esta pesquisa objetivou avaliar a influência da temperatura no polimento do efluente de termoprocessamento de carne de frango através do cultivo da microalga *Parachlorella kessleri*.

5.4 MATERIAIS E MÉTODOS

5.4.1 Material biológico e Condições da cultura

A espécie de microalga utilizada nesta pesquisa foi a *Parachlorella kessleri* (Fott & Nováková) (Krietz, 2004), pertencente à classe Trebouxiophyceae. Ela foi coletada em reservatório na cidade de Florianópolis e inserida no banco de cepas do Laboratório de Cultivo e Biotecnologia de Algas (LCBA) da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC-Laguna, sob código (LCBA001). Foram mantidas na sala de microbiologia do Laboratório de Tratamento de Água e Resíduos (LABTRAT) na UDESC-Lages, com fotoperíodo de 12 h, aeração constante, iluminação artificial com lâmpadas LED de 40W e, em meio sintético Tris-Acetate-Phosphate Medium (TAP) que apresenta a seguinte composição: $2.00 \cdot 10^{-2}$ M ($\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$), $7.00 \cdot 10^{-3}$ M (NH_4Cl), $8.30 \cdot 10^{-4}$ M ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), $4.50 \cdot 10^{-4}$ M ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $1.65 \cdot 10^{-3}$ M (K_2HPO_4), $1.05 \cdot 10^{-3}$ M (KH_2PO_4), $1.34 \cdot 10^{-4}$ M ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), $1.36 \cdot 10^{-4}$ M ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), $1.84 \cdot 10^{-4}$ M (H_3BO_3), $4.00 \cdot 10^{-5}$ M ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), $3.29 \cdot 10^{-5}$ M ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), $1.23 \cdot 10^{-5}$ M ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), $1.00 \cdot 10^{-5}$ M ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), $4.44 \cdot 10^{-6}$ M ($(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_3$), $1.00 \cdot 10^{-3}$ M (CH_3COOH).

5.4.2 Aclimatação prévia

Para executar o experimento com a microalga *P. kessleri*, foram realizadas duas etapas de aclimatação: a primeira com o efluente do termoprocessamento de carne de frango e a segunda com as respectivas temperaturas dos tratamentos.

5.4.2.1 Aclimatação do efluente

O efluente utilizado foi de termoprocessamento de carne de frango de uma empresa avícola, na qual a estação de tratamento de efluente (ETE) apresenta as seguintes etapas: tanques de peneiras, tanque equalizador, flotador, lagoas de estabilização e decantador. Devido as baixas concentrações de nitrogênio ao final do tratamento na ETE, as coletas foram realizadas em dois pontos dela, o efluente tratado (ET) após o decantador e, o efluente biológico (EB) após a lagoa de estabilização. Ambos eram coletados, caracterizados e sem filtração semanalmente, realizou-se um *blend* entre o ET e EB, para manter a concentração de N. Assim, aclimatar a espécie e ampliar gradualmente o volume do inóculo. Ambos efluentes foram caracterizados conforme *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 21º edição (APHA, 2005) e, foram analisados os parâmetros descritos na tabela 03.

Tabela 03 - Parâmetros físico-químico para análise de efluente com seus respectivos métodos da APHA (2005).

PARÂMETRO	UNIDADE	MÉTODO
<i>Conduтивidade</i>	mS/cm	2510-B
<i>Cor Aparente</i>	Pt-Co	2120 C
<i>Demanda Biológica de Oxigênio (DBO)</i>	mg. L ⁻¹	5210 B
<i>Demanda Química de Oxigênio (DQO)</i>	mg. L ⁻¹	5220 D
<i>Fósforo (PO₄³⁻)</i>	mg. L ⁻¹	4500-P E
<i>Nitrato (N-NO₃⁻)</i>	mg. L ⁻¹	4500-NO ₃ ⁻
<i>Nitrito (N-NO₂⁻)</i>	mg. L ⁻¹	
<i>Nitrogênio amoniacial (N-NH₃)</i>	mg. L ⁻¹	4500-NH ₃ F
<i>Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)</i>	mg. L ⁻¹	4500-Norg
<i>Oxigênio Dissolvido (OD)</i>	mg. L ⁻¹	4500-O
<i>Potencial Hidrogeniônico (pH)</i>	-	4500-H ⁺ B
<i>Temperatura (T)</i>	°C	2550
<i>Turbidez</i>	NTU	2130 B

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Entre sete e nove dias de cultivo, foram realizados repiques para aumentar o volume de inóculo. Sendo que, para cada repique era utilizado 20% de inóculo do volume total do próximo cultivo, em que totalizou 30 dias de aclimatação no *blend* do efluente.

5.4.2.2 Aclimatação da temperatura

Posteriormente aclimatação do *blend* de efluente, os inóculos foram mantidos até o quarto dia de cultivo na sala de microbiologia e transferidos para três incubadoras BOD (marca Lucaderma), sob aeração constante, fotoperíodo de 12h e iluminação artificial (Figura4). Em cada incubadora, foi colocado o frasco do inóculo e estabelecida a temperatura de 22°C, durante três dias as temperaturas foram ajustadas gradualmente para minimizar estresse. Na temperatura de 10 °C, foi reduzido 3,5 °C no 1º dia, 3 °C no 2ºdia e 3º dia pela manhã 3 °C e no final da tarde 2,5 °C. Na temperatura de 20 °C, foi reduzido 1 °C no 1º dia e 0,5 °C no 2ºe 3ºdia.Na temperatura 30 °C, foi elevado 3,5 °C no 1º e 2º dia, e 1 °C no 3º dia. Paralelamente aos ajustes das temperaturas, foram monitorados os cultivos em cada incubadora, com densidade celular e óptica, pH, temperatura e turbidez.

Figura 04 - Aclimatação para o experimento. (a) Aclimatação no efluente com volume de 15L na sala de microbiologia; (b) Aclimatação da temperatura de 10 °C na incubadora, (c) Aclimatação da temperatura de 20 °C na incubadora; (d) Aclimatação da temperatura de 30 °C na incubadora.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.4.3 Condições Experimentais

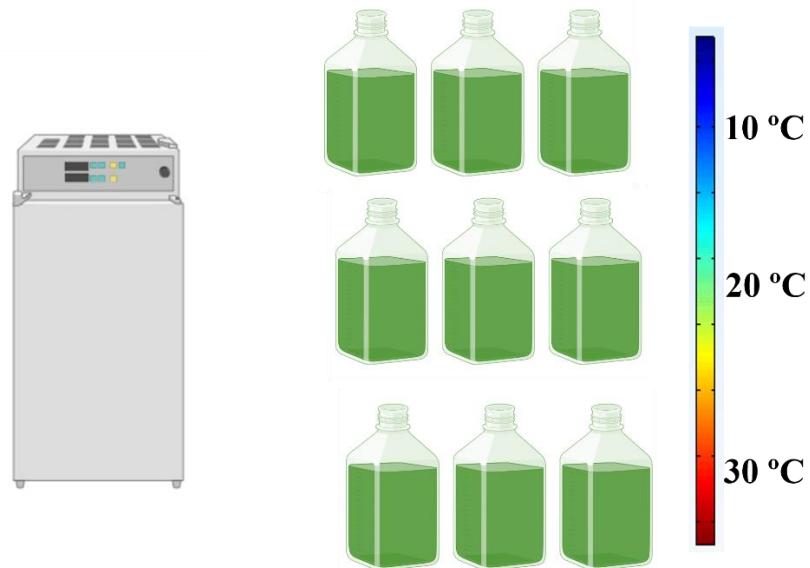
Em cada unidade experimental, o volume dos frascos era de 5 litros com volume útil de 4 litros, sendo adicionados 3,2L do *blend* do efluente. Já o volume do inóculo, foram ajustados para cada unidade experimental iniciar com densidade celulares similares com, 0,68L, 0,7L e 0,8L para T10, T20 e T30, respectivamente. As unidades experimentais, foram condicionadas com aeração constante com seis compressores de ar (marca Boyu) em cada incubadora, com fotoperíodo de 12 horas e iluminação artificial com quatro lâmpadas de LED com capacidade 9W, totalizando 36W.

5.4.4 Delineamento Experimental

Para determinar as temperaturas dos tratamentos, utilizou-se como referência as médias da temperatura da cidade de Lages, durante as estações do ano a partir do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Sendo os tratamentos: 10 °C (T10) refere-se o inverno, 20 °C (T20) refere-se a primavera e outono e, 30 °C (T30) refere-se o verão. O experimento teve a duração de 13 dias,

com cada tratamento (T10, T20, T30) realizados em triplicadas, totalizando nove unidades experimentais. Elas foram organizadas em cada incubadora em suas respectivas temperaturas (Figura 05).

Figura 05 – Representação gráfica das unidades experimentais na incubador com suas respectivas temperaturas para o experimento com *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango.



Fonte: Elaborado pela autora com a plataforma Biorender (2024).

Diariamente foram coletadas amostras de cada unidade experimental, para realizar o monitoramento do cultivo e medir os parâmetros abióticos e bióticos conforme sua frequência de análise. As análises diárias para densidade celular, densidade óptica (descritas nas seções 5.4.5.1 e 5.4.5.2), pH, temperatura e turbidez. A temperatura e o pH eram mensurados após a coleta de cada unidade experimental nas incubadoras e, utilizou pHmetro (marca Kasvi- K39-0014PA) e, a turbidez foi medida utilizando o método 077 no espectrofotômetro (marca Merck- Nova60). Para análises intermitentes, para condutividade, mensurado nos dias 0,2,4,6,10 e 13, utilizando o medidor de condutividade (AKSO-EC Basic). A biomassa seca será descrita na seção 5.4.5.3, foi mensurada nos dias 0,2,4,6 e 13. Já para as concentrações de nutrientes foram mensurados no dia 0, 6 e 13 e será descrito na seção 5.4.6.

Conforme a frequência das análises, os volumes coletados eram diferentes. Para os dias de cultivo, com análises diárias e intermitentes, eram coletados 100 ml. Para os dias com apenas as análises diárias, eram coletados 20 ml de cada unidade experimental. Sendo utilizado uma seringa (20ml) para coletar as amostras em cada unidade experimental, eram posteriormente higienizadas para usá-las novamente.

5.4.5 Parâmetros de crescimento e produtividade

5.4.5.1 Densidade celular

Para determinar a densidade celular, foram coletadas alíquotas de cada unidade experimental diariamente. Realizou-se a contagem das células com auxílio da câmera de Neubauer, microscópio binocular e contador digital. Posteriormente, foram determinadas: densidade celular máxima (Neves, 2013), a taxa de crescimento específico (equação 01) (Lourenço, 2006), velocidade de crescimento (equação 02) e tempo de duplicação (equação 03) (Derner, 2006) das unidades experimentais a partir das respectivas equações.

$$\mu = \ln\left(\frac{N_f - N_i}{\Delta t}\right) \quad (\text{Equação 01})$$

Onde μ é a taxa de crescimento específica, \ln é o logaritmo natural, N_f e N_i são densidade final e inicial respectivamente e o Δt é o tempo em dias do cultivo.

$$k = \left(\frac{3,322}{\Delta t}\right) \times \log\left(\frac{N_f}{N_i}\right) \quad (\text{Equação 02})$$

Onde k é a velocidade de crescimento, 3,322 é o fator de convenção do logaritmo em base 2 a base 10; \log é o logaritmo em 10; N_f e N_i são densidade final e inicial respectivamente do cultivo.

$$T_2 = \frac{1}{k} \quad (\text{Equação 03})$$

Onde T_2 é o tempo de duplicação e k é a velocidade de crescimento do cultivo.

5.4.5.2 Densidade óptica

Para determinar a densidade óptica, foi utilizada a absorbância de 680 nm, sendo coletadas alíquotas diariamente de cada unidade experimental. Posteriormente, elas eram homogeneizadas e analisadas em espectrofotômetro (marca Merck Prove 100). Utilizou-se os valores obtidos da densidade óptica, para estimar a biomassa seca nos dias em que não foram mensuradas, a partir da regressão linear com equação ($R^2 = 0,8323$).

5.4.5.3 Análise de Produtividade

Para determinar a biomassa seca, foram filtradas alíquotas de cada unidade experimental, utilizou-se kitassato, microfiltro G1 de 47 mm de diâmetro (marca Nagel) e bomba a vácuo. Aplicou-se a equação 04 (Arredondo-Veja; Voltolina, 2007), para determinar a produtividade.

$$P = \frac{X_f - X_i}{\Delta t} \quad (\text{Equação 04})$$

Onde P é a produtividade de biomassa; X_f e X_i são biomassa final e inicial respectivamente e o Δt é o intervalo de tempo entre X_f e X_i .

5.4.6 Avaliação da remoção de nutrientes

Posteriormente a coleta das amostras de cada unidade experimental, elas foram transferidas para tubos Falcon (capacidade de 50ml), centrifugadas (centrífuga Kasvi-K14-4000) durante 15 minutos sob rotação de 4000rpm, para separar a biomassa microalgal do efluente. O sobrenadante da centrifugação, foi transferido para outro tubo Falcon (capacidade de 50ml), para serem armazenados e congelados até sua análise.

Foram analisados Nitrogênio total Kjeldahl, Nitrogênio amoniacal, Nitrato, Nitrito e Fósforo, a metodologia conforme métodos listados na Tabela 03. Para análise de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), foram utilizados digestor e capela de exaustão, destilador de nitrogênio (marca Tecnal-Brasil) e bureta digital (marca Brand-4760161), para titulação da amostra com solução de HCl 0,01 mol/L. Ao final do teste, para obter a concentração de NTK presente nas amostras, foi utilizada a equação 05.

$$NTK(\frac{ml}{L}) = \frac{\text{Volume de HCl(ml)} \times 0,01 \times 14}{\text{Volume da amostra (ml)}} \times 1000 \quad (\text{Equação 05})$$

Para análise de nitrogênio amoniacal e fósforo, primeiramente as amostras foram diluídas na proporção de 1ml de amostra e 50 ml de água destilada e posteriormente, seguiu-se os respectivos métodos (Tabela 01). Em todas as análises, foi utilizado espectrofotômetro (marca Merck Prove 100) para obter as respectivas concentrações. Adiante, para determinar a eficiência de remoção, aplicou a equação 06

$$\text{Eficiência de remoção} = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 06})$$

Onde C_i é a concentração inicial e C_f é a concentração final do nutriente

5.4.7 Avaliação do teor proteico

Foram coletas amostras no dia 0 e no dia 13, com volumes aproximadamente 1,5L dos tratamentos, posteriormente foram transferidas para tubos Falcon (volume de 50ml). Elas foram centrifugadas (centrífuga Kasvi-K14-4000) durante 15 minutos, sob rotação de 4000rpm para separar a biomassa microalgal do efluente. Os precipitados foram retirados, colocados em placas de Petri, secaram em estufa durante 12 horas com temperatura de 50°C. A biomassa seca, foi retirada das placas de Petri, pesadas em balança analítica (marca Shimadzu) e armazenadas em Eppendorf (volume de 2ml) para análise.

Para determinar o teor proteico, seguiu-se o mesmo método para determinar a concentração de NTK (seção 5.4.6) da biomassa. Foram pesadas 50 mg de cada unidade experimental em balança analítica (marca Shimadzu) e, aplicou a equação 07 com fator de conversão 4,78 (Templeton; Laurens, 2015).

$$\text{Proteína}(\%) = \left[\frac{\text{Volume de HCl(ml)} \times 0,01 \times 14}{\text{Peso da amostra (mg)}} \times 1000 \right] \times 4,78 \quad (\text{Equação 07})$$

5.4.8 Análise de atividade enzimática de lipase

Foram coletadas amostras do inóculo dia 0 e 13 de cultivo, com volume de 15ml, armazenadas em tubos Falcon (volume de 15 ml) e congeladas até sua análise. Para realizar a análise da atividade enzimática da lipase, as amostras foram descongeladas e alíquotas de 2 ml foram transferidas para Eppendorf (volume de 2ml). Utilizou-se a metodologia de extração de Safi *et al.* (2015) e Skorupskaite *et al.* (2019) adaptado por Primo (2022), que consiste em romper a parede celular das amostras em banho ultrassônico (Eco-sonics), sob uma temperatura constante de 20 °C e ciclos de 5s no banho e 15s de descanso até completar 30 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (mini centrífuga portátil Walter) durante 10 minutos em 7000rpm e, o extrato enzimático foi obtido do sobrenadante das amostras.

Para determinar a atividade enzimática, foi utilizado a metodologia de Brabcová *et al.* (2013) e Pastore, Costa, Koblitz (2003), que consiste em adicionar em tubos de ensaio 500µL de solução de Tris-HCL (Tris(hidroximetil)-aminometano) a 100mM. Seguida de 500 µL de água deionizada, 40µL da amostra e por último 100 µL de solução de laurato de p-nitrofelina a 3mM. Seguidamente agitou-se em vórtex para homogeneizá-la e aguardou 20 minutos, parou-se a reação

adicionando 1,5ml de acetona. Posteriormente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro (marca Merck- Nova60) em absorbância de 410 nm.

5.4.9 Análise Estatística

O experimento ocorreu com delineamento em blocos casualizados, com três tratamentos em triplicatas e todas as análises foram realizadas em triplicatas com suas respectivas médias e desvios padrões. Utilizou-se o *software R* para análise de variância unifatorial e bifatorial (ANOVA) e, quando os resultados apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, foi aplicado o teste de Tukey com 5% de significância.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.5.1 Caracterização do *blend* do efluente

Como mencionado, os efluentes de processamento de aves apresentam em sua composição concentrações distintas de nitrogênio e fósforo e, é dependente do segmento industrial que se origina esse efluente. Neste experimento, o efluente avícola é advindo do termoprocessamento da carne de frango, logo as características do efluente diferem de outros segmentos por não ter abate, corte ou resíduos do processamento de ave. Além disso, as concentrações dos compostos presentes no efluente sofrerão variações sob influência das atividades da indústria e ambientais. A partir disso, caracterizou-se o *blend* dos efluentes para o experimento (Tabela 04). Tanto na legislação federal como na estadual o efluente tratado (ET) está em conformidade as legislações vigentes, exceto o fósforo. Segundo Conselho Estadual do Meio Ambiente 182 de 2021 (CONSEMA 182/21), deverá apresentar uma concentração máxima de 4mg.L. Em um estudo anterior com o mesmo efluente de termoprocessamento de carne de frango, no mesmo ponto do efluente biológico (EB) deste experimento, o P apresentou uma faixa de concentração de $5,45 \pm 0,28$, $5,91 \pm 0,34$ e $22,11 \pm 0,69$ mg. L⁻¹ em períodos distintos da ETE (Primo, 2022). Logo, mesmo oscilando e diminuindo a concentração de P do EB de 16 mg. L⁻¹ para $10,09 \pm 2,22$ mg. L⁻¹ do ET, há necessidade de um polimento para atender a legislação.

Tabela 04 - Caracterização físico-química do *blend* de efluente do termoprocessamento de carne de frango utilizado para o experimento. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão.

PARÂMETRO	UNIDADE	LEGISLAÇÃO AMBIENTAL*	EFLUENTE TRATADO	EFLUENTE BIOLÓGICO
<i>Condutividade</i>	<i>mS/cm</i>	-	2,13±0,08	1,82±0,05
<i>Cor Aparente</i>	<i>Pt-Co</i>	-	61,67±0,76	124,50±3,58
<i>DBO</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	70	8±0,00	393,33±90,74
<i>DQO</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	200	58,59±2,93	848,38±124,35
<i>Fósforo</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	4	10,09±2,22	16±0,76
<i>Nitrato</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	-	5,42±2,73	2,95±0,28
<i>Nitrogênio amoniacal</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	20	-	48,40±7,82
<i>Nitrogênio Total</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	-	2,24±0,32	148,21±3,11
<i>Kjeldahl</i>				
<i>Oxigênio Dissolvido</i>	<i>mg. L⁻¹</i>	-	10,07±0,32	8,30±0,26
<i>pH</i>	-	5 a 9	7,43±0,15	6,17±0,12
<i>Temperatura</i>	°C	<40°C	21,17±0,06	21,30±0,10
<i>Turbidez</i>	<i>NTU</i>	-	6,67±0,58	45,67±1,15

*Conselho Estadual do Meio Ambiente

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

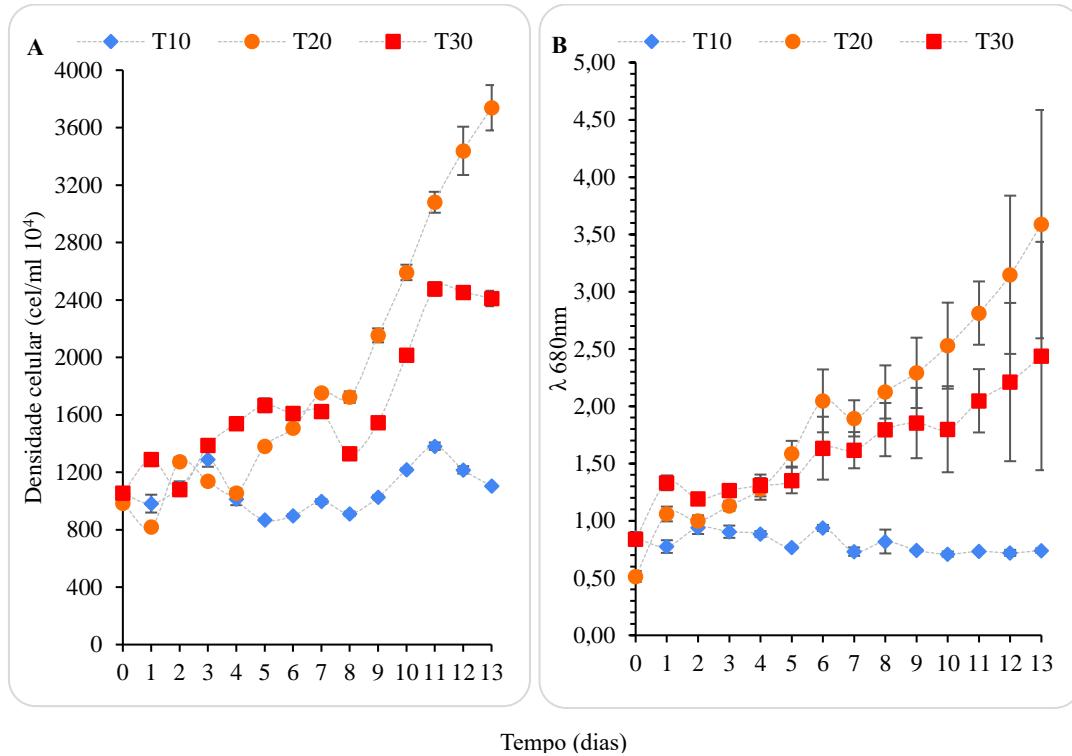
Assim, a caracterização do efluente demonstra a variabilidade entre os pontos e período da coleta na ETE. Logo, é importante observar qual e quando determinado parâmetro apresentará ligeiras elevações na concentração. Essas informações são importantes ao acoplar um sistema de polimento da ETE com as microalgas. Independentemente das variações das características do efluente, ele deverá propiciar crescimento microalgal e alta produtividade de biomassa, consequentemente terá uma maior eficiência de remoção no sistema (Acién *et al.*, 2016; Morales-Amaral *et al.*, 2015). Todavia, deve-se compreender que a microalga apresentará mecanismos de absorção e assimilação de N e P distintos e, simultaneamente, haverá processos físico-químico e biológico, com a presença da comunidade bacteriana, atuando na remoção dos nutrientes. Isso não dependerá apenas das concentrações no efluente, mas também das variações da temperatura. Neste experimento, condicionou-se *P. kessleri* a diferentes temperaturas no *blend* de efluentes e, obtiveram-se mecanismos de remoção de N e P entre os tratamentos. Ressalta-se que, esses valores correspondem as concentrações de cada efluente utilizado para o *blend* e, além destes, havia as concentrações residuais advindas dos inóculos para o experimento, assim as concentrações iniciais dos tratamentos foram distintas.

5.5.2 Crescimento e Produtividade

Uma das principais características da microalga *P. kessleri* é sua alta de taxa de crescimento (Gómez-Pérez, Espinosa, Montenegro-Ruiz, 2021) e, durante os 13 dias de cultivo em efluente de termoprocessamento de carne de frango. Ela apresentou diferenças acentuadas no seu crescimento, ao ser condicionada a diferentes temperaturas. Foram monitorados densidade celular (DC) e densidade óptica (DO_{680}) (Figura 6 a e b respectivamente), sendo verificado que a curva DC do tratamento T20 apresentou o maior crescimento, com uma densidade celular máxima (DCM) de $3.738,33\text{ cel/ml }10^4$ no último dia de cultivo. Seguiu-se, dos tratamentos T30 e T10, com DCM de $2.453,33\text{ cel/ml }10^4$ e $1.381,67\text{ cel/ml }10^4$ com diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, respectivamente. Apesar do tratamento T30 ter apresentado uma DCM alta, ela ficou abaixo do tratamento T20, logo a temperatura de $30\text{ }^\circ\text{C}$ poderá estar próxima do limite térmico tolerado pela *P. kessleri*. Em um estudo, ela foi condicionada a temperatura supra-ótimas ($\geq 40\text{ }^\circ\text{C}$) e, apresentou inibição do crescimento celular, bloqueio da replicação do DNA e da divisão celular. Consequentemente, diminuição da produtividade, levando o cultivo ao colapso (Zachleder *et al.*, 2021; Barten *et al.*, 2021).

Já o tratamento T10, apresentou a menor DCM entre os tratamentos. Logo, o efeito de temperatura baixa inibi-o seu crescimento celular, além disso, poderá diminuir a fluidez da membrana, elevar a solubilidade de O_2 , estresse oxidativo e modificar a estrutura do RNA gerando deformações (Ahmad *et al.*, 2020; Ermilova, 2020). Em estudo anterior com a *P. kessleri* condicionada no mesmo efluente deste experimento, obteve-se DCM de $1.877\text{ cel/ml }10^4$ no $11\text{ }^\circ\text{C}$ dia de cultivo sob uma temperatura média de $24\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ (Primo, 2022). Assim, mesmo apresentando uma DCM inferior às DCM's do tratamento T20 e T30 deste experimento, constata-se que a faixa de temperatura de $20\text{ }^\circ\text{C}$ a $30\text{ }^\circ\text{C}$ poderá a ser ideal para obter crescimento celular elevado da *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango.

Figura 06 - Parâmetro de crescimento e produtividade. (a) densidade celular e; (b) densidade óptica.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Semelhante à curva DC, a curva DO₆₈₀ também apresentou diferenças acentuadas no seu crescimento, observou-se que o tratamento T20 obteve a maior absorbância com $3,59 \pm 1$, seguidos dos tratamentos T30 e T10 com, $2,44 \pm 0,10$ e $0,94 \pm 0,03$ abs. (680 nm) respectivamente, com diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Corroborando com a faixa de temperatura de 20 a 30 °C, que o apresentou as maiores taxas de crescimento celular *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango. Essa faixa de temperatura ideal da microalga *P. kessleri*, foi observado em outros efluentes. Cultivou-a em efluente de digestão anaeróbica, sob temperatura de 25 ± 2 °C. Obteve-se uma DO₆₈₀ de $4,07 \pm 0,30$ abs. em Erlenmeyer de 500ml e, em um fotobioreator de 1L, obteve-se $2,79 \pm 0,59$ abs., sob condições controladas (Manthos *et al.*, 2022). Em outro estudo, cultivou-a em efluente municipal sob temperatura de 22 °C, obteve-se uma DO₆₈₀ de 2,5 abs., após sete dias de cultivo (Osundeko *et al.*, 2014). E ao compará-la com outras espécies cultivadas em efluentes, observou-se que o tratamento T20 foi superior à microalga *Scenedesmus obliquus* com DO₆₈₀ de 2,5 abs. e *Chlorella pyrenoidosa* com DO₆₈₀ de 0,96 abs., ambas cultivadas

em efluente de suínos diluídos a 12%, sob temperatura de 24 ± 2 °C (He *et al.*, 2023). Já com a microalga *Chlorella vulgaris*, obteve-se uma DO₆₈₀ de $1,62\pm12$ abs. em efluente têxtil diluído, sob uma temperatura de 25 ± 2 °C (Fazal *et al.*, 2021). Entretanto, ao comparar estes estudos com a DO₆₈₀ do tratamento T10, constatou-se que todos foram superiores, corroborando que a temperatura baixa exerce influência negativa sobre o crescimento da microalga *P. kessleri* deste experimento.

Além das curvas de DC e DO₆₈₀, observou-se que os parâmetros de crescimento da microalga *P. kessleri* também apresentaram diferenças entre os tratamentos (TABELA 5). Sendo que, a maior taxa de crescimento específica (μ) foi obtida pelo tratamento T20 com $0,12\pm0,01\text{d}^{-1}$, seguida pelos tratamentos T30 e T10 com $0,07\pm0,000$ e $0,06\pm0,010$ estatisticamente semelhantes, respectivamente. Ressalta-se que, a taxa de crescimento específica foi mensurada a partir da maior biomassa seca dos tratamentos. Sendo os tratamentos T20 e T30, foram alcançados no último dia de cultivo e, o tratamento T10 foi alcançado no 6º dia de cultivo. Já a velocidade de crescimento e o tempo de duplicação, foram estaticamente semelhantes nos tratamentos T20 e T30, com $0,30\pm0,008$ e $0,29\pm0,006$ e $3,29\pm0,08$ e $3,50\pm0,07$, respectivamente. Esses dados, endossam que a temperatura é um fator significativo que influenciará a taxa de crescimento, bem como suas variações terão efeitos consideráveis sobre o cultivo de microalgas (Chowdury *et al.*, 2020).

Mesmo com esses parâmetros de crescimento significativos, ao comparar a μ de Primo (2022), em que obteve a maior μ $0,29\pm0,03\text{ d}^{-1}$ e a menor de $0,17\pm0,02\text{ d}^{-1}$, ambas superiores a deste experimento. Um dos fatores que podem ter corroborado com isso, foi que os inóculos necessitavam de um período maior para adaptar ao efluente. Esse período longo de adaptação, será observado como uma fase *lag* maior na curva de crescimento da microalga. Fato este que, poderá ser observado ao utilizar efluentes como meio de cultivo, que afetará o ciclo de produção, logo um desafio ao sistema de cultivo (Nagi *et al.*, 2020).

Tabela 05 - Parâmetros de crescimento da microalga *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango condicionadas a diferentes temperaturas, T10, T20 e T30. Os valores correspondem as médias \pm desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas ($p>0,05$).

TRATAMENTO	TAXA DE CRESCIMENTO ESPECÍFICA(μ) (d^{-1})	VELOCIDADE DE CRESCIMENTO (K)	TEMPO DE DUPLICAÇÃO (T ₂)	PRODUTIVIDADE DA BIOMASSA (g.L.d ⁻¹)	BIOMASSA SECA (g.L)	
					Inicial	Final
T10	0,06 \pm 0,01 ^b	0,55 \pm 0,01 ^a	1,81 \pm 0,05 ^b	0,017 \pm 0,00 ^b	0,263 \pm 0,03 ^{ab}	0,370 \pm 0,01 ^b
T20	0,12 \pm 0,01 ^a	0,30 \pm 0,008 ^b	3,29 \pm 0,08 ^a	0,049 \pm 0,01 ^a	0,18 \pm 0,02 ^b	0,820 \pm 0,15 ^a
T30	0,07 \pm 0,00 ^b	0,29 \pm 0,006 ^b	3,50 \pm 0,07 ^a	0,028 \pm 0,00 ^b	0,270 \pm 0,01 ^a	0,636 \pm 0,07 ^a

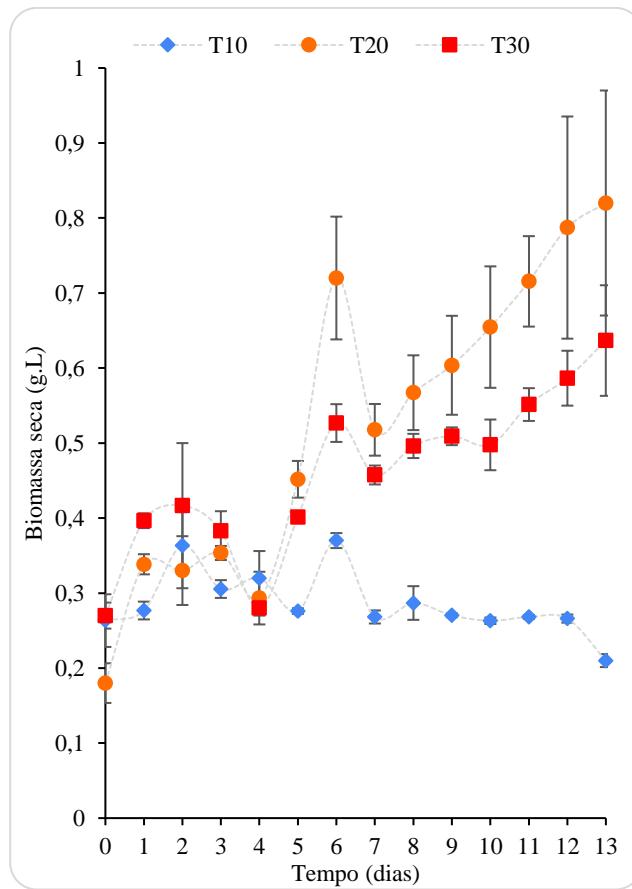
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Apesar da relevância em compreender as curvas e os parâmetros de crescimento, servindo como base para monitorar e identificar as condições e deficiências da cultura para tomadas de decisões. Há necessidade de um parâmetro que mensure além do estado de crescimento da célula, que exprima a máxima produtividade que a cultura pode obter em massa. O parâmetro da biomassa seca, considera a concentração dos compostos internos (Pahija; Hui, 2019), que também será afetado por temperaturas baixas, que reduzirá a fotossíntese (Carneiro *et al.*, 2020; Singh; Singh, 2015). Ao analisar tanto a produtividade da biomassa como a biomassa seca do final do experimento, o tratamento T20 apresentou-se com as maiores concentrações com, 0,049 \pm 0,01 g.L.d⁻¹ e 0,820 \pm 0,15 g.L, respectivamente. Entretanto, o tratamento T30 foi estatisticamente semelhante ao T20, ao compará-lo a biomassa seca final, com 0,636 \pm 0,07 g.L. E ao observar a produtividade da biomassa do tratamento T30, foi semelhante estatisticamente ao tratamento T10 com, 0,028 \pm 0 g.L. d⁻¹ e 0,017 \pm 0 g.L.d⁻¹, respectivamente.

Por sua vez, a produtividade da biomassa foi obtida quando cada tratamento apresentava a máxima de biomassa seca, sendo que nos tratamentos T20 e T30 foram no último dia de cultivo e, no tratamento T10, foi no 6º dia de cultivo. Além da produtividade da biomassa do tratamento T10 menor, a sua biomassa seca no 6º dia foi de 0,370 \pm 0 g.L e, no último dia de cultivo, foi de 0,210 \pm 0 g.L (Figura 7), evidenciando o declínio da biomassa. Em todos os tratamentos, o 6º dia de cultivo apresentou um aumento da biomassa seca e, a partir deste dia, é possível identificar que os

tratamentos T20 e T30 progrediram no crescimento e, o tratamento T10 foi gradualmente diminuindo sua biomassa seca. Esses dados corroboram com a DCM e DO₆₈₀, que a faixa de temperatura de 20 °C a 30 °C propiciou-se o maior crescimento celular e produtividade da biomassa da microalga *P. kessleri* deste experimento. E que, a temperatura 10 °C influenciou-se negativamente, levando-a ao declínio da produtividade da biomassa.

Figura 07 - Biomassa seca obtida durante os 13 dias de experimento da microalga *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Corroborando com a faixa de temperatura de 20 °C a 30 °C, em que se obtiveram as maiores biomassas secas deste experimento, há um estudo com *P. kessleri* em efluente de suíno que se obteve a maior produtividade da biomassa de $1,15 \pm 56$ g.L.d⁻¹ e uma biomassa seca de 9,2 g.L no

último dia de cultivo, sob temperatura de 30 °C (Qu *et al.*, 2019). Estes valores, foram superiores aos obtidos deste experimento, mas eles foram alcançados por ajustes de temperatura, intensidade luminosa e por cultivá-las em condições heterotróficas ao adicionar CO₂. Entretanto, deve-se avaliar se ao alterar o modo de cultivo, será viável tecno-economicamente. Mesmo sendo uma técnica aplicável e comum adicionar uma fonte de carbono na cultura, possibilitará obter rendimentos superiores a 100g.L de produtividade de biomassa em produção em larga escala (Van de Walle *et al.*, 2024).

Além disso, a cultura poderá apresentar uma dinâmica populacional distinta durante as estações do ano sob variações da temperatura, consequentemente haverá oscilações da produtividade da biomassa microalgal. Em uma estação piloto de cultivo em meio sintético, monitorou-se o policultivo durante um ano, observaram-se as variações da produtividade da biomassa. Dentre as espécies presentes no cultivo, a microalga *P. kessleri* apresentou a maior produtividade durante o inverno, com $0,13\pm96$ g.L.d⁻¹ ($20,1\pm0,5$ °C), seguida do outono com $0,0821\pm1,49$ g.L.d⁻¹ ($21,7\pm0,5$ °C). Já no verão, obteve-se $0,0785\pm5,7$ g.L.d⁻¹ ($26,2\pm0,3$ °C) e, obteve-se a menor produtividade na primavera com, $0,0629\pm1,3$ g.L.d⁻¹ ($24,9\pm0,3$ °C) (Fields *et al.*, 2022). Contudo, nota-se que a média das temperaturas do estudo ficou na faixa dos 20 °C, constatando que mudanças sutis da temperatura afetarão a produtividade da biomassa, bem como há outros fatores além da temperatura envolvidos na máxima produtividade em culturas de microalgas.

Essa influência da temperatura sobre o crescimento e produtividade das microalgas, deve-se ao fato que elas são organismos poiquilotérmicos (do grego “*poikilo*” = variado e “*therme*” = calor), que não controlam sua temperatura e devem adaptar-se as condições do meio (Huner *et al.*, 2023; Ishikawa-Ishiwata *et al.*, 2023). Neste experimento com a microalga *P. kessleri*, constatou-se que as temperaturas dos tratamentos a afetaram de maneiras distintas. Obteve-se um crescimento e produtividade significativa na faixa de temperatura 20 e 30 °C, bem como se obteve inibição na temperatura de 10 °C. Logo, temperatura baixa levará a redução da atividade enzimática e fotossintética, ocorrerá remodelação dos lipídios e redução da fluidez da membrana celular, denominada de plasticidade fenotípica adaptativa homeoviscosa (Huner *et al.*, 2023; Jebali *et al.*, 2022; Jiang; Chen, 2000; Mock; Valentin, 2004). Ressalta-se que, é necessário identificar qual as temperaturas ideais e letais, para obter uma faixa de temperatura que a microalga manterá seu

crescimento e produtividade, para escaloná-la sob as oscilações da temperatura em um sistema ao ar livre.

Ademais, o cultivo da *P. kessleri* em efluente termoprocessamento de carne de frango necessitará otimizar o sistema, buscando alternativas e um manejo adequado para obter a máxima produtividade da espécie. Considerando não apenas a microalga inoculada, mas outras espécies de microalgas e comunidade microbiana presentes no cultivo, e como elas irão interagir sob as condições ambientais da região de Lages.

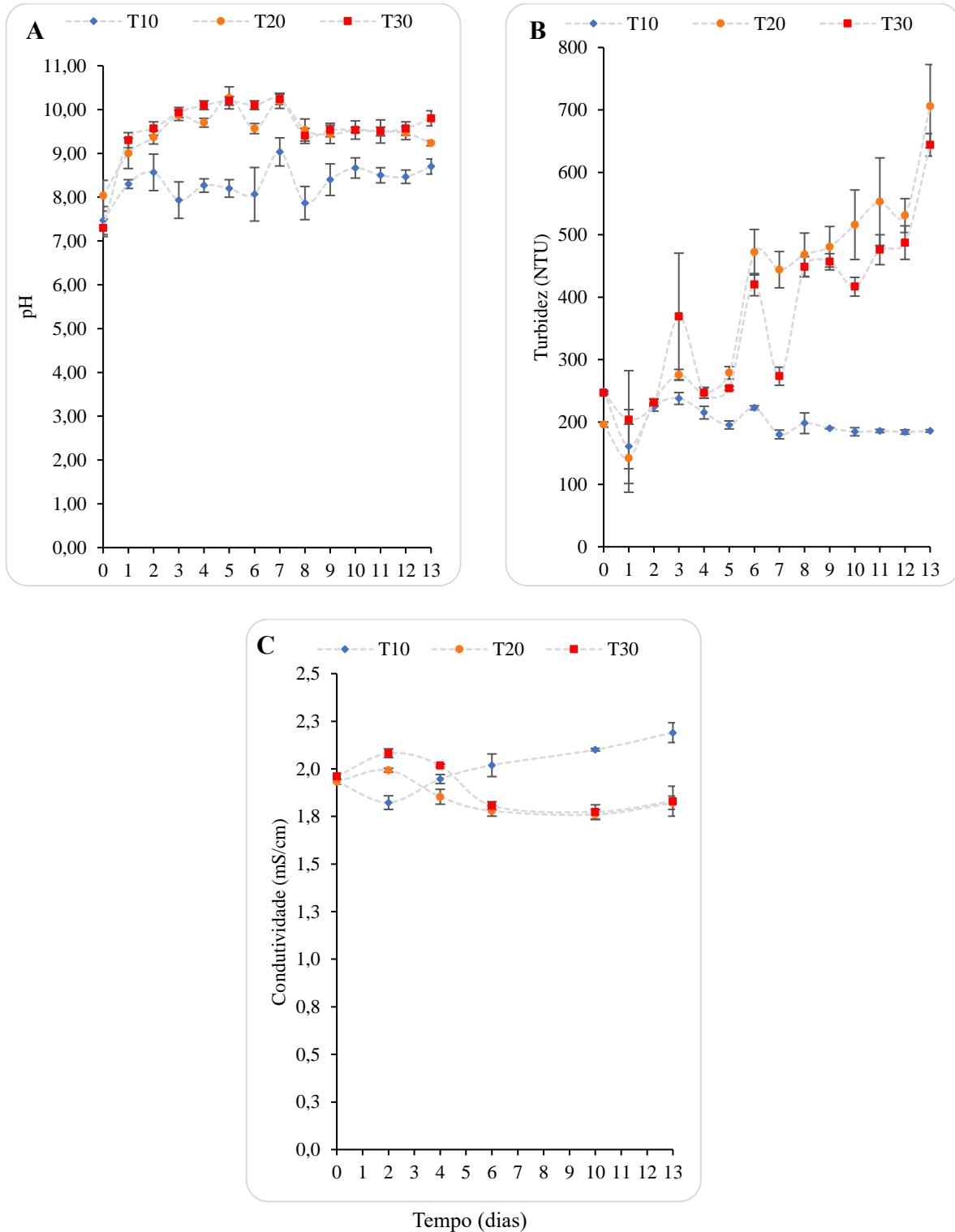
5.5.3 Parâmetros físicos do experimento

Neste experimento, foi verificado como um fator abiótico, como a temperatura influencia o cultivo da *P. kessleri*. Entretanto, além da temperatura, há outros fatores abióticos que são simultaneamente importantes no cultivo de microalgas, como o pH, turbidez e a condutividade. Semelhante ao que ocorre com a temperatura, o pH também há uma faixa ótima para cada espécie de microalga e, qualquer mudança no pH irá causar respostas bioquímicas das microalgas (Ananthi *et al.*, 2021). Além disso, há uma singularidade da relação pH – microalga, o pH do meio influência a microalga como o crescimento da microalga influencia o pH do meio (Yu *et al.*, 2022). Ademais, as espécimes dos nutrientes N e P também serão influenciados pelo aumento do pH, reduzirão sua biodisponibilidade para as microalgas (Chowdury *et al.*, 2020; Lopéz-Sánchez *et al.*, 2022). No início do experimento, o pH estava ligeiramente alcalino com, $7,45 \pm 0,32$, $8,03 \pm 0,35$ e $7,3 \pm 0,2$ para os tratamentos T10, T20 e T30 respectivamente. Mas, ao decorrer do experimento, os tratamentos T20 e T30 (Figura 8a) apresentaram um aumento significativo da alcalinidade, com pH médio de $9,48 \pm 0,12$ e $9,58 \pm 0,05$, respectivamente.

Na literatura, as maiores taxas de crescimento das microalgas ocorrem em pH neutro, mas algumas espécies, como a *Chlorella vulgaris*, podem crescer em uma ampla faixa de pH, podendo inibir severamente seu crescimento celular com valores extremos (Filali *et al.*, 2021; Juneja; Ceballos; Murthy, 2013). Neste experimento, observou que *P. kessleri* obteve as maiores taxas de crescimento em pH alcalino nos tratamentos T20 e T30, logo, ocorreu absorção das espécimes carbonáceas do meio, produzindo mais H⁺. A presença e a concentração de H⁺, são fundamentais para o metabolismo e crescimento celular, sinalização da transdução e, nos processos metabólicos como, a fotossíntese (Zerveas *et al.*, 2021). Quanto maior a atividade fotossintética do cultivo de microalgas, haverá o aumento do pH, o que foi observado nos tratamentos T20 e T30. Entretanto, mesmo com o pH médio alcalino de $8,32 \pm 0,09$, o tratamento T10 obteve uma taxa de crescimento

inferior aos demais tratamentos. Além do pH expressar a condição e crescimento da cultura, bem como a assimilação das espécimes dos nutrientes do meio, apresentar um pH alcalino pode ser uma opção para colheita microalgal. A partir da autoflocação ou flocação alcalina, caracterizada pela simplicidade e sustentabilidade, envolve a precipitação de fosfato de cálcio, carbonato de cálcio ou hidróxido de magnésio em pH acima de 9 (Rao *et al.*, 2023; Young *et al.*, 2021).

Figura 08 - Parâmetros físicos monitorados no experimento. (a) pH; (b) Turbidez e; (c) Condutividade. As médias das unidades experimentais com seus respectivos desvios padrões.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Já a turbidez, é um parâmetro essencial para cultivar microalgas em efluente. Quando um efluente tem alta turbidez, há detritos inorgânicos e orgânicos que, interferirão na clareza da água (Tawfik *et al.*, 2022). Logo, ao apresentar uma turbidez elevada dificultará a penetração de luz, consequentemente o crescimento das microalgas. Mas, do ponto de vista do cultivo de microalgas, esse parâmetro pode refinar o monitoramento da densidade celular, há interesse crescente neste parâmetro ao escaloná-la (Thoré *et al.*, 2021a). Nesta última abordagem, a turbidez média do experimento foi obtida com $200 \pm 6,68$, $398,81 \pm 16,86$ e $369,60 \pm 11,48$ NTU para os tratamentos T10, T20 e T30, respectivamente (Figura 08b). Ao observar os parâmetros de crescimento e produtividade obtidas nos tratamentos, há uma possível correlação com a turbidez apresentada neste experimento.

Ao obter uma turbidez elevada, nos tratamentos T20 e T30, também se obteve um crescimento e produtividade altos. Quando o crescimento e a produtividade declinaram, houve uma turbidez reduzida, como no tratamento T10. Entretanto, como qualquer outro parâmetro, a turbidez também apresentará desvio que, são relativos a cada espécie. E ao utilizar efluente como meio de cultivo, também poderá ter partículas nestes que irão influenciar a medição da turbidez. Mesmo com essas desvantagens, a turbidez poderá ser útil para automatizar a cultura e a colheita e, para tomadas de decisões sobre o cultivo da microalga (Thoré *et al.*, 2021a).

Semelhante aos outros parâmetros, a condutividade é uma medida que pode ser aplicada tanto para tratamento de efluentes como no cultivo de microalgas. Ela medirá a condução elétrica, a partir da concentração de íons dissolvidos de sais e materiais inorgânicos presentes na água (Kinuthia *et al.*, 2020; Zafar; Javed; Hassam, 2022). No entanto, a condutividade no cultivo de microalgas não é considerada um parâmetro crítico, mas devido à facilidade e rapidez pode ser um parâmetro no monitoramento do cultivo (Resman *et al.*, 2023). Neste experimento, a condutividade inicial foi estatisticamente semelhante entre os tratamentos, em que obteve $1,932 \pm 11,93$ mS/cm, $1,936 \pm 1,73$ mS/cm e $1,960 \pm 15,63$ mS/cm para os tratamentos de T10, T20 e T30, respectivamente. Mas, ao final do experimento, apresentou diferenças estatísticas entre os tratamentos T20 e T30 com o tratamento T10, sendo que este apresentou um aumento da condutividade para $2,190 \pm 52$ mS/cm. Já para os tratamentos T20 e T30, a condutividade diminuiu para $1,821 \pm 35$ mS/cm e $1,830 \pm 78$ mS/cm, respectivamente.

A diminuição da condutividade pode estar relacionada ao consumo de íons de nutrientes do meio, fato que no tratamento T10 ocorreu com menor eficiência, poderá ser um indicativo que

ocorreu decomposição de células mortas das microalgas e conversão do material particulado em dissolvidos, elevando a condutividade. Além de um parâmetro para monitoramento do cultivo, poderá ser um parâmetro essencial ao utilizar a eletroflocação para a colheita da biomassa. Ao medir a condutividade do cultivo, poderá projetar qual a carga elétrica necessária, sem danificar as células e/ou aumentar a concentrações de sais no meio, obtendo maior eficiência de colheita microalgal (Inostroza *et al.*, 2022).

5.5.4 Remoção de Nutrientes: Nitrogênio

O nitrogênio é um elemento essencial para o crescimento e composição bioquímica das microalgas e, cada espécie terá uma fonte de nitrogênio favorável (Salbitani, Carfagna *et al.*, 2021; Yaakob *et al.*, 2021). Além disso, o efluente apresenta em sua composição diferentes fontes de nitrogênio, sob diversas concentrações. E essas diferentes fontes de nitrogênio, resultará como o nitrogênio é absorvido e assimilado (Su, 2021). Assim, analisaram-se as fontes: nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$), nitrito (NO_2) e nitrato (NO_3), no dia zero, seis e 13 do experimento. O NO_2 , foi a única fonte de N que não apresentou concentração observável para leitura do experimento.

O NTK, que obtém tanto a concentração de nitrogênio orgânico como inorgânico da amostra, apresentou a maior eficiência de remoção no tratamento T30 com, 90,20% seguido, pelo tratamento T20 com, 70,83%, que foram estatisticamente semelhantes. Já o tratamento T10, houve um aumento da concentração de NTK ao final do experimento.

Ressalta-se que, no 6º dia de cultivo, apresentou remoção em todos os tratamentos, porém nos tratamentos T20 e T30, a remoção foi acentuada e progrediu-se até ao final do experimento. E o tratamento T10, evidenciou-se o efeito da temperatura sobre a remoção de NTK. A eficiência de remoção de NTK dos tratamentos T30 e T20, estão nos valores de referência com cultivo de microalgas com efluente avícola (Tabela 6). Ao observar os estudos com *Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoides* e *Tetradesmus obliquus*, obteve-se uma eficiência de remoção de 100% de NTK, sob uma temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Viegas *et al.*, 2021). Em outro estudo, sob uma temperatura de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$, obtiveram-se 80,19% de remoção de NTK com a *Chlorella pyrenoidosa* (Singh *et al.*, 2020). Considerando-se as taxas de remoções obtidas neste experimento e dos estudos citados, observa-se que, a faixa de temperatura de 20-30 °C propiciou alta eficiência de remoção de NTK.

Tabela 06 - Eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo da *P. kessleri* cultivada em efluente de termo processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos e as letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas no tempo dos tratamentos ($p>0,05$).

PARÂMETROS	VALORES DE REFERÊNCIA (%) [*]	TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÃO			EFICIÊNCIA (%) ^{**}
			INICIAL	6ºDIA	FINAL	
NTK	63-100	T10	31,70±4,41 ^{bA}	28,39±0,23 ^{aA}	33,87±4,03 ^{aA}	N.O.
		T20	38,57±0,71 ^{aA}	17,87±0,23 ^{bb}	11,25±0,71 ^{bc}	70,83
		T30	37,57±0,55 ^{aA}	21,51±1,58 ^{BB}	3,68±1,08 ^{cC}	90,20
		T10	37,17±1,20 ^{aA}	12,54±1,58 ^{AB}	45,22±0,07 ^{aA}	N.O.
NH ₃ -N	57-100	T20	37,10±7,45 ^{aA}	0,45±0,62 ^{BB}	27,05±0,60 ^{aA}	27,09
		T30	37,07±0,98 ^{aA}	3,70±0,47 ^{bB}	24,25±10,85 ^{aA}	34,58
		T10	3,6±0,05 ^{abA}	1,79±2,20 ^{aA}	3,90±0,51 ^{aA}	N.O.
NO ₃	79-98	T20	5,84±0,10 ^{aA}	0,62±0,03 ^{AB}	1,64±0,37 ^{aB}	71,92
		T30	2,41±1,06 ^{bA}	3,03±0,30 ^{aA}	3,82±0,87 ^{aA}	N.O.
		T10	64,89±2,47 ^{cA}	14,06±0,50 ^{AB}	5,00±1,28 ^{aC}	92,29
PO ₄	56-97	T20	78,69±0,49 ^{bA}	6,91±0,23 ^{BB}	3,41±0,15 ^{aC}	95,67
		T30	93,74±0,91 ^{aA}	8,58±1,25 ^{BB}	6,37±0,14 ^{aB}	93,20

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

N.O.: não observável.

*Dados obtidos de estudos em que utilizaram efluente do processamento de aves para cultivo de microalgas por Adekanmi *et al.* (2020); Han *et al.* (2019); Katircioglu-Sinmaz; Erden; Sengil, (2022); López-Sánchez *et al.* (2022); Musetsho *et al.* (2021); Oliveira *et al.* (2019); Singh *et al.* (2020); Thoré *et al.* (2021b); Viegas *et al.* (2021).

** Referente as concentrações final e inicial do experimento.

Como mencionado, o ponto de coleta do efluente na ETE é tão importante quanto o próprio sistema de cultivo/polimento com as microalgas. Deve-se ao fato que, o efluente apresentará características do tratamento secundário, as bactérias transformarão rapidamente a matéria orgânica em CO₂, NH₄⁺ e PO₄⁻³. Posteriormente, absorvidos e assimilados pelas microalgas (Acién *et al.*, 2016). Logo, a fonte de nitrogênio predominante nos efluentes é NH₄⁺, além de fonte preferencial das microalgas, pelo menor gasto energético para assimilá-la, sua presença irá inibir como as outras fontes serão assimiladas. Neste experimento, os tratamentos T30 e T20 obtiveram a maior eficiência de remoção de NH₃-N com, 34,58% e 27,09% não apresentaram diferenças estatísticas, respectivamente. No tratamento T10, a concentração de NH₃-N foi maior ao final do experimento. Ao comparar as taxas de remoção dos tratamentos, com a microalga *Chlorella vulgaris* que se obteve uma eficiência de 57,74%, sob uma temperatura de ~30 °C (Adekanmi *et*

al., 2020). Observa-se que, ao final do experimento, foram inferiores e as concentrações estão acima do permitido pelas legislações vigentes.

Ao determinar a concentração de NH₃-N poderá realizar especiação, se há a forma ionizada ou não ionizada. Dependendo das suas concentrações, ambas serão tóxicas, mas NH₃ é mais tóxica para as microalgas (Chen; Wang, 2020). Para realizar especiação da amônia no meio, aplicou-se a equação NH₃(%): $100/(1+10^{(pK_a-pH)})$ (Körner *et al.*, 2001) nos tratamentos. Obtiveram-se 4,55%, 59,51% e 78,97% de NH₃ nos tratamentos T10, T20 e T30, respectivamente. Assim, como a temperatura propiciará que os tratamentos T20 e T30 obtivessem um crescimento celular elevado e este, elevou-se o pH do meio acima de 9,25. Consequentemente, pH's alcalinos favoreceram a volatilização da NH₄⁺ assim, a NH₃ apresentasse a maior concentração nestes tratamentos. Ressalta-se que, haverá mecanismos de remoção da amônia concomitantemente, por processos físico-químicos e biológicos.

Por sua vez, ao analisar as concentrações de NH₃-N no 6º dia de cultivo, observará que, em todos os tratamentos, houve remoção significativa. Ao considerar a eficiência de remoção deste dia, o tratamento T20 obteve 98,79% seguidas, pelos tratamentos T30 e T10 com, 90,05% e 66,26%, respectivamente. Assim, concentrações estariam conforme as legislações ambientais. Ao compará-las com a microalga *Chlorella vulgaris*, em que obteve 99% de eficiência de remoção de NH₄ e, ~0,68 g.L de biomassa seca no 12º dia de cultivo. Sendo no 4º dia, apresentará apenas 0,54 mg. L e ~0,42 g.L, sob controle de pH 10,5 e temperatura de 25 ± 1 °C (Katircioglu-Simnaz; Erden; Sengil, 2022). Esses dados, apontam que *P. kessleri* obteve uma taxa de eficiência de remoção de NH₃-N semelhante ao do estudo, com menor tempo de cultivo e um pH de 9,57 para o tratamento T20. Entretanto, a biomassa obtida no 6º dia no tratamento T20, era 0,72 g.L e ao final alcançará 0,82 g.L com pH de 9,23. Assim, com menor tempo de cultivo terá uma elevada eficiência de remoção de NH₃-N, mas haverá um rendimento da biomassa seca menor ao compará-la com o último dia de cultivo. Logo, realizar o monitoramento das concentrações de N e P ao longo do cultivo é uma estratégia para determinar o dia adequado para obter eficiência de remoção conforme as legislações ambientais. E paralelamente, obtenha-se uma produtividade de biomassa elevada de *P. kessleri*. Ressalta-se que, neste experimento não foi controlado o pH, poderá ser uma alternativa verificar se elevando e mantendo o pH alcalino alto (como do estudo referenciado) *P. kessleri* cultivada em efluente de termoprocessamento de carne de frango alcançará a mesma eficiência de remoção de NH₃-N e biomassa seca em períodos maiores de cultivo.

Outra fonte de nitrogênio mensurada foi NO_3^- , apesar da $\text{NH}_3\text{-N}$ apresentar uma maior concentração no meio e ser a fonte preferível pelas microalgas, o nitrato eleva a atividade fisiológica das células, pela estabilidade e sofrer menos interferência às mudanças de pH (Kumar; Bera, 2020; Yaakob *et al.*, 2021). Neste experimento, o tratamento T20 obteve a maior eficiência de remoção com 71,92%. Já os tratamentos T30 e T10, apresentaram concentrações superiores ao início do experimento. Ressalta-se que, paralelamente ao cultivo de microalga, haverá processos de nitrificação/desnitrificação ocorrendo no meio. Assim, a comunidade bacteriana presente também terá seu crescimento e funções fisiológicas comprometidas, sob efeito da temperatura. A maioria das espécies de bactérias presentes no processo de nitrificação/desnitrificação, são mesofílicas (20-30 °C). Logo, com temperaturas ≤ 10 °C sua função será drasticamente inibida e, diminuirá seu crescimento celular. Reduzirá a eficiência da desnitrificação, devido ao atraso na expressão de genes responsáveis pela nitrificação /desnitrificação, por apresentar uma fase *lag* longa como, *Pseudomonas mandelli* (He *et al.*, 2018b; Rajta *et al.*, 2019; Saleh-Lakha *et al.*, 2009).

Além disso, há relato que *Chlorella kessleri* (atualmente *P. kessleri*), sob cultivo de ciclos claro/escuro, apresentou menor eficiência de remoção de NO_3^- ao comparar com luz contínua (Lee; Lee, 2001). Neste experimento, o ciclo claro/escuro foi 12 horas em todos os tratamentos, assim não é apenas o período de luz fornecida. Mas a temperatura condicionada terá impacto na assimilação de NO_3^- . Ao nível molecular, com a microalga *Chlamydomonas* sp. que, a assimilação de NO_3^- poderá ser regulada pela presença de NH_3 . Sua presença, reprimirá os genes codificadores do nitrato redutase e seus respectivos transportadores pelo NH_3 , logo bloqueará a assimilação NO_3^- (Sanz-Luque *et al.*, 2015).

Neste experimento, a temperatura foi a principal condicionante e, sua interferência na assimilação de N é por afetar a atividade enzimática (Zhang *et al.*, 2020) das microalgas. Logo, como todo processo de assimilação de N requer ação de complexos enzimáticos, como nitrito e nitrato redutase, ciclo glutamina sintetase – glutamato sintase (GS-GOGAT) ou NADP-glutamato desidrogenase (GDH), ao ser condicionada a diferentes temperaturas, a atividade delas poderão ser comprometidas. Em que, atividade poderá inibida, desnaturada, conformação estrutural inadequada e inativação funcional. Observa-se que os tratamentos T20 e T30, apresentaram as maiores eficiências de remoção e, essa faixa de temperatura é condizente a relatos da *Chlorella* (mesma ordem que *P. kessleri*). Ela cresce na faixa de 25 e 32°C, e ao condicioná-la, poderá tolerar temperaturas $\geq 40^\circ\text{C}$. Entretanto, o desafio são as temperaturas baixas (Salbitani; Carfagna, 2021),

quando condicionou *P. kessleri* a temperatura de 10°C, obteve-se remoção de N, densidade celular e produtividade da biomassa inferiores aos outros tratamentos. Além disso, ao prospectar o escalonamento do cultivo, as temperaturas baixas irão oscilar, haverá fotoperíodo e radiação diferentes, assim esses fatores poderão agravar produção, crescimento e assimilação de N. Logo, requer alternativas para manter uma eficiência de remoção adequada em temperaturas baixas.

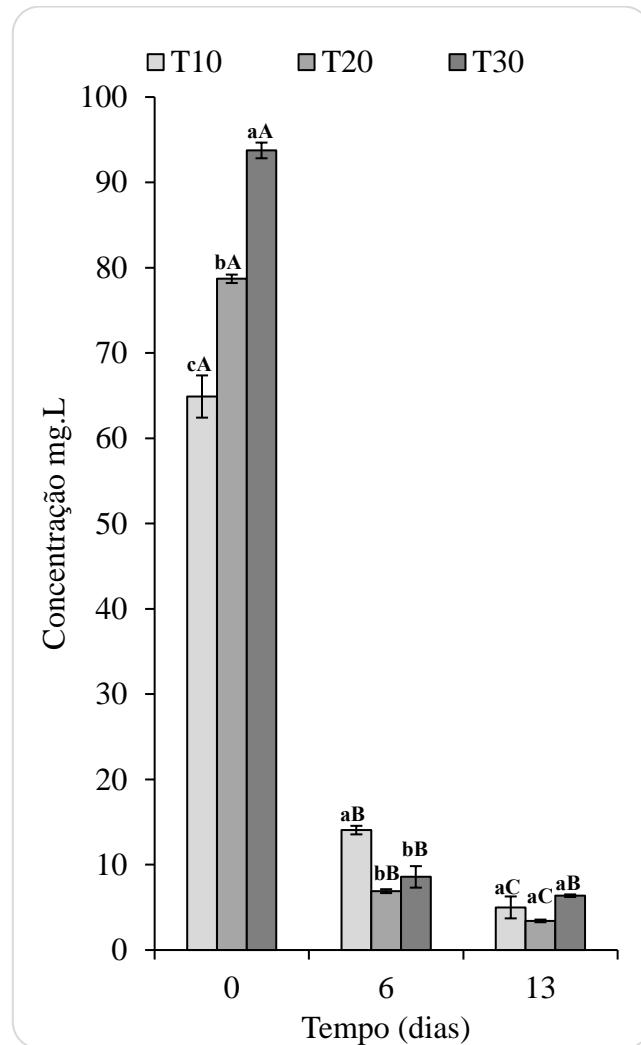
Assim, realizar o monitoramento das concentrações de N ao longo do cultivo é uma alternativa para determinar o tempo adequado para obter uma eficiência de remoção, que atenda as legislações ambientais e, simultaneamente alcance uma produtividade de biomassa elevada.

5.5.5 Remoção de Nutrientes: Fósforo

A remoção de P em efluentes poderá ocorrer de três formas: (i) naturalmente, quando há altas concentrações de N e P, presença de Mg e pH alcalino, formando estruvita; (ii) quimicamente, ao adicionar sais de ferro ou alumínio e; (iii) biologicamente, por organismos que removem ou são acumuladores de polifosfato (Christensen *et al.*, 2022; Sena *et al.*, 2021). As microalgas são consideradas organismos que absorvem e assimilam P para síntese de biomoléculas e, podem acumulá-lo em até 4-6% da sua biomassa na *luxury uptake* (Schaedig *et al.*, 2023; Solovchenko *et al.*, 2019). Ao contrário da remoção de N, que obteve oscilações e evidenciou a influência da temperatura sobre sua assimilação, a eficiência de remoção de P foi expressiva em todos os tratamentos. Obteve-se, 92,29, 95,67 e 93,20% nos tratamentos T10, T20 e T30 respectivamente e, as concentrações de P no 6º dia de cultivo (Figura 9), já apresentava acentuada assimilação em todos os tratamentos. Entretanto, apenas no último dia de cultivo no tratamento T20, obteve-se concentração estabelecida na legislação vigente. Logo, cultivos longos poderão propiciar uma alta remoção de P.

Ao observar um estudo com *Scenedesmus obliquus* em efluente de flocação primária de restos de aves, sob uma temperatura ~25°C, obteve-se uma eficiência de remoção de P de 97% (Oliveira *et al.*, 2019). Já no estudo com *Chlorella pyrenoidosa* em excretas de aves, obteve-se uma eficiência de remoção de 95,14%, sob uma temperatura de 30±2°C (Singh *et al.*, 2020). Indicando que, a faixa de temperatura de 20-30 °C propiciará alta eficiência de remoção de P em algumas microalgas. Entretanto, neste experimento, obtiveram alta eficiência de remoção de P em todas as temperaturas.

Figura 09 - Concentração inicial, no 6º dia e final de PO_4^{3-} no experimento com *P. kessleri* em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias \pm desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos e as letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas no tempo dos tratamentos ($p>0,05$).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Por sua vez, faz necessário compreender quais as vias que as microalgas utilizam para remover o P e, outros processos físico-químicos e biológicos no meio. Há comumente três vias para a remoção de P pelas microalgas, (i) a assimilação, (ii) absorção extracelular e, (iii) precipitação abiótica (Qu *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2020) e, todos dependerão da espécie e das condições do cultivo. Ao assimilar o P, as microalgas utilizam-no para síntese de metabolitos de

DNA, RNA, ATP e fosfolipídios. Semelhante ao N que há preferência pela NH₃, as espécimes de P inorgânicas, com baixa carga, são mais biodisponíveis (Solovchenko *et al.*, 2019; Su, 2021).

Outra possibilidade para alta remoção de P em todos os tratamentos, é a *luxury uptake*. Caracteriza-se pela capacidade de absorver mais P do que necessita para suas funções fisiológicas e, é dependente da concentração de P, escassez de N, S e Zn, luz ou temperatura (Wu *et al.*, 2021). E, levará as células acumularem grânulos de polifosfato (PolyP) nos acidocalcisosomos (Goodenough *et al.*, 2019; Slocombe *et al.*, 2023). Neste experimento, a concentração de P estava superior a 60 mg. L, em todos os tratamentos. Logo, sob condições repletas de P, ele será utilizado para síntese de metabolitos para divisão celular (Slocombe *et al.*, 2023) consequentemente, para crescimento celular e produtividade microalgal. Além da concentração de P, a restrição de N também poderá propiciar *luxury uptake*, neste experimento, a concentração de N foi inferior à concentração de P. Assim, poderá ser um gatilho para ocorrer a absorção de luxo. O efeito da temperatura, também é considerado fator que poderá levar a *luxury uptake*. Em um estudo, ao testar a influência de temperaturas de 15 e 25 °C na absorção de P em *Scenedesmus* sp. em efluente sintético, verificou-se que, a temperatura alta, obtivera maior concentração de polyP. Mas após sete dias de cultivo, ambas temperaturas, houve *luxury uptake*. Logo, este mecanismo de remoção de P, irá ocorrer independentemente da temperatura (Powell *et al.*, 2009).

Além dos fatores mencionados, poderá ocorrer a precipitação do P, resultado do pH alcalino do meio. Ao caracterizar o efluente de termoprocessamento de carne de frango, verificou-se que apresentava pH neutro no ET e ligeiramente ácido no EB. Ao acoplar um polimento com microalgas na ETE, o pH do meio elevará, devido à intensa atividade celular, fato constatado neste experimento. Logo, a presença de *P. kessleri* possibilitara que dois mecanismos de remoção ocorressem simultaneamente, via assimilação e precipitação do P. Nos tratamentos T20 e T30, constatou-se, que ambas as vias ocorreram, devido à alta densidade celular, produtividade da biomassa e pH alcalino. Para verificar se houve *luxury uptake* nos tratamentos, deverá analisar a concentração de polifosfato (polyP), bem como realizar a especiação. Mas, o acúmulo de polyP não ocorre simultaneamente quando há uma alta produtividade microalgal nesta via (Powell *et al.*, 2011; Su, 2021). Sendo assim, ao observar a baixa produtividade de biomassa, pH alcalino e a alta taxa de remoção de P do tratamento T10, a hipótese é que ocorreu a precipitação do P.

Há que considerar que, sob diferentes temperaturas, *P. kessleri* obteve uma alta taxa de remoção P. Independentemente das vias utilizadas, ela é uma espécie promissora para removê-lo

do efluente de termoprocessamento de carne de frango e atender às legislações vigentes. Contudo, investigar a capacidade dela de, além de remover P acumulá-lo, necessita de mais estudos. Não apenas do ponto de vista de recuperar este nutriente e aplicá-lo, como biomateriais, produtos farmacêuticos, aditivos alimentares e biofertilizantes (Solovchenko *et al.*, 2019). Mas ao acumular o P, haverá concomitantemente sequestro de cofatores enzimáticos e metais pesados como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Cd^{2+} e Co^{2+} (Albi; Serrano, 2016; Goodenough *et al.*, 2019; Sanz-Luque; Bhaya; Grossman, 2020; Slocombe *et al.*, 2020; Su, 2021). Endossando a capacidade de remediar metais pesados das microalgas, de forma sustentável. No entanto, essa capacidade de remover cátions poderá apresentar uma desvantagem. Esses cátions participam como cofatores enzimáticos em diversas funções celulares e, ao retê-lo nos acidocalcisosomos, tornam-se indisponíveis para as demais funções na microalga.

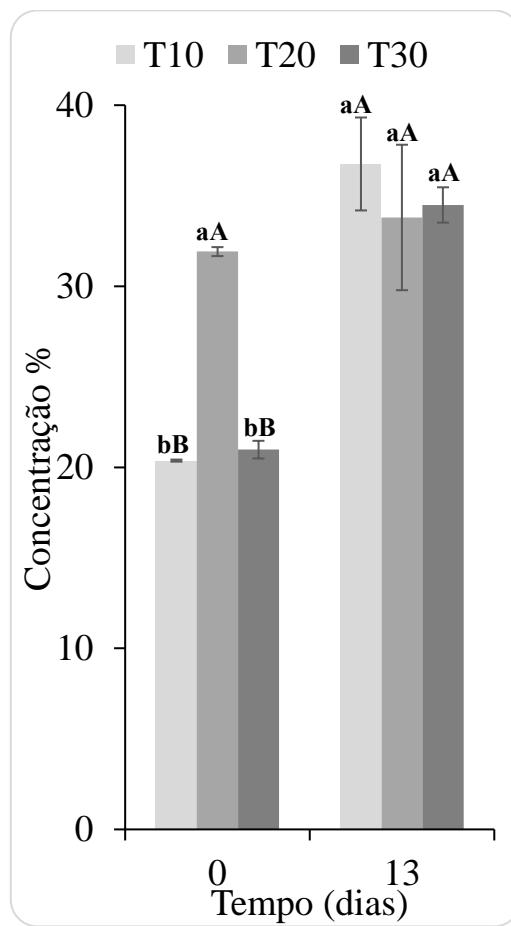
5.5.6 Teor de proteínas

O cultivo de microalgas em efluentes tem dois objetivos diferentes, mas que são interdependentes e simultaneamente importantes: (*i*) realizar eficientemente a remoção dos nutrientes e (*ii*) a biomassa gerada necessita tornar-se um produto comercial. Logo, caracterizar a composição da biomassa da espécie alvo é essencial para identificar quais biomoléculas apresentarão elevado grau de síntese. Consequentemente, qual produto poderá gerar. Dentre os componentes presentes na biomassa microalgal, as proteínas representam alto teor e o conteúdo bruto poderá variar de 30 a 80% dependendo da espécie (Geda *et al.*, 2021; Janssen; Wijffels; Barbosa, 2022). Sua variação estará condicionada às alterações da temperatura, ao passar por períodos longos de temperatura elevada, ocorrerá a redução do teor proteico (Pitawala *et al.*, 2023). Mas também haverá variação do teor proteico, durante as estações do ano. Em um estudo, obtiveram-se $42,27 \pm 0,86\%$ no verão e no inverno $36,02 \pm 3,79\%$ do teor proteico em raceway (Quiroz-Arita *et al.*, 2022).

Neste experimento, os tratamentos T10, T20 e T30 obtiveram um teor proteico de $36,76 \pm 2,56\%$, $33,80 \pm 4,01\%$, $34,49 \pm 0,97\%$, estatisticamente semelhantes, respectivamente (Figura 10). Logo, a temperatura não exercera influência sobre o teor proteico de *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango no experimento. No entanto, ao comparar os teores iniciais e finais dos tratamentos, observa-se que o tratamento T20 obteve um aumento de apenas 5,58%. Já os tratamentos T10 e T30 obtiveram um aumento de 80,45 e 39,18% do teor proteico,

respectivamente. Ressalta-se que, o tratamento T10 apresentara acentuado declínio da densidade celular durante o cultivo, assim o aumento do teor proteico poderá estar relacionado à morte celular da microalga, bem como ao aumento da comunidade microbiana no cultivo.

Figura 10 - Teor de proteínas inicial e final obtida do cultivo da *P. kessleri* em efluente de processamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos e as letras maiúsculas representam as diferenças estatísticas no tempo dos tratamentos ($p>0,05$).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Ao comparar os teores proteicos obtidos deste experimento, com um estudo anterior com o mesmo efluente e espécie, obteve-se um teor proteico de 39,21%, sob uma temperatura de $25\pm0,9^{\circ}\text{C}$ (Vargas *et al.*, 2023). E ao cultivá-la em efluente aquícola, obteve-se um teor proteico de $32,3\pm1,1\%$, sob uma temperatura de 25°C (Akmukhanova *et al.*, 2022). Valores semelhantes ao

deste experimento (Tabela 07). Entretanto, ao observar os teores proteicos da espécie *Chlorella vulgaris* em efluente aquícola, obtiveram-se $57\pm1,2\%$, sob uma temperatura de 25°C. E ao cultivá-la em efluente de abate de aves, obtiveram-se 24,8% de teor proteico, sob uma temperatura de $23\pm2^{\circ}\text{C}$ (Viegas *et al.*, 2021). Verifica-se que, os teores proteicos irão modificar a partir do efluente, da espécie e da temperatura condicionada à cultura. Mas, ao condicionar *C. vulgaris* a uma temperatura de 4°C em efluente municipal, obteve-se um teor proteico de 18,4% (Xu *et al.*, 2019). Neste mesmo estudo, alternaram a temperatura de 4°C e depois aumentaram para 35°C e, verificaram diminuição significativa do teor proteico para 11,6% (Xu *et al.*, 2019). Esses dados salientam que, a oscilação da temperatura impactará consideravelmente o teor proteico, do que manter uma temperatura regular no cultivo.

Tabela 07 - Teor proteico de espécies de microalgas cultivadas em efluente sob diferentes temperaturas. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão.

ESPÉCIE	TEOR PROTEICO (%)	TEMPERATURA DE CULTIVO (°C)	EFLUENTE	REFERÊNCIA
<i>Parachlorella kessleri</i>	32,3±1,1			
<i>Chlorella vulgaris</i>	57±1,2	25	Efluente Aquicultura	Akmukhanova <i>et al.</i> (2022)
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	35,55±1,1			
<i>Parachlorella kessleri</i>	39,21	25±0,9	Efluente de processamento de carne de frango	Vargas <i>et al.</i> (2023)
<i>Chlorella vulgaris</i>	24,8			
<i>Chlorella protothecoides</i>	21,7	23±2	Efluente de abatedouro de aves	Viegas <i>et al.</i> (2021)
<i>Tetradesmus obliquus</i>	21,9			
<i>Chlorella sorokiniana</i>	18	25±1	Efluente laticínio	Kusmayadi <i>et al.</i> (2022)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	54,35	30±2	Efluente de excreta de aves	Singh <i>et al.</i> (2020)
<i>Chlorella vulgaris</i>	18,4	4	Efluente municipal	Xu <i>et al.</i> (2019)
	36,76*	10	Efluente de termo	
<i>Parachlorella kessleri</i>	33,80**	20	processamento de carne de frango	Este estudo
	34,49***	30		

*Tratamento T10; **Tratamento T20, ***Tratamento T30.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Ao obter o teor de proteínas existente da biomassa microalgal *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne de frango, necessitara identificar qual produto comercial será destinado, sendo que as proteínas de microalgas são consideradas *biocommodities*, podem gerar vários produtos (Beigbeder; Boboescu; Lavoie *et al.*, 2019; Pierson *et al.*, 2023; Quiroz-Arita *et al.*, 2022). Por ser cultivada em efluente, aplicar sua biomassa rica em proteínas como, alimento ou suplemento de ração, requer regulamentação de órgãos competentes. Para analisar a presença de compostos recalcitrantes, como metais pesados advindos do efluente. Entretanto, há outras

aplicações das proteínas de microalgas além de suplemento alimentar, como alimentação animal, biofertilizantes, poliuretano e álcoois mistos.

Em um estudo, projetarão o volume gerado da biomassa de microalgal e quais produtos sua proteína poderia ser aplicada, a partir da ETE do *Fort Worth* no Texas, USA. Estimarão que ela obterá um rendimento semanal de biomassa de microalgas de 94,76 toneladas e que, destes, 40±5% serão de proteínas com, 33,2-42,6 toneladas. Assim, os autores propõem que essas proteínas sejam utilizadas como espuma de poliuretano não isocianato (NIPU), com rendimento de 550 toneladas e 1.144 toneladas de álcool misto (Pierson *et al.*, 2023). Outra aplicação, é utilizá-las como biofertilizantes, já que sua biomassa é rica em nutrientes, por processos de mineralização (Musetsho *et al.*, 2021). Dependendo da espécie microalgal, haverá variações no teor dos aminoácidos, seja para formar proteína ou como aminoácidos livres. A presença do triptofano propiciará um crescimento vegetal significativo, como também será fundamental para formar proteínas e hormônios vegetais. Já os aminoácidos e peptídeos livres, poderão auxiliar na síntese de clorofila e em moléculas sinalizadoras nas plantas (Bello; Saadaoui; Bem-Hamadou, 2021; Cordeiro *et al.*, 2022).

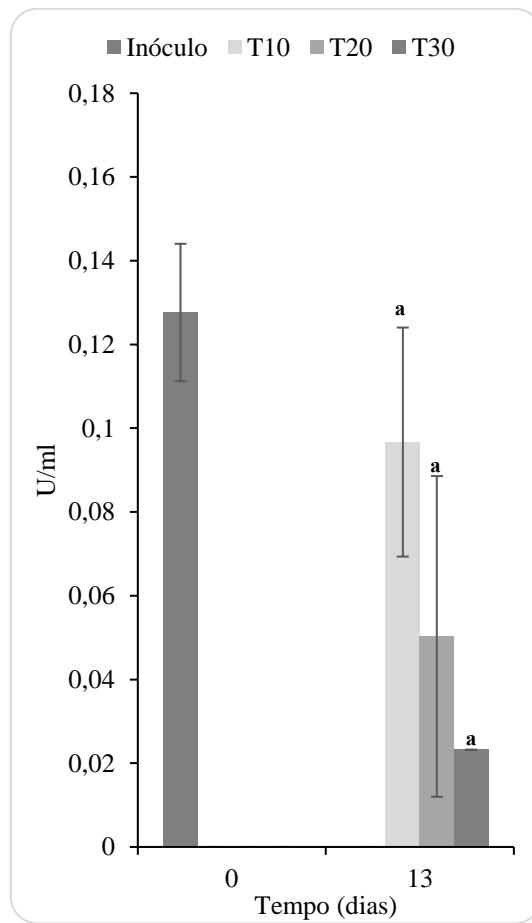
5.5.7 Atividade enzimática da lipase

Além da proteína microalgal poder ser utilizada para produção de álcoois mistos, poliuretano e biofertilizantes, poderá gerar subproduto de alto valor no mercado, as lipases. Elas são biocatalisadoras mais promissoras da biotecnologia, por otimizarem produção industrial de alimentos, detergentes, biocombustível e tratamento de efluentes (Ben Bacha *et al.*, 2022; Remonatto *et al.*, 2022; Vingiani *et al.*, 2019). Entretanto, há poucos estudos que identificam, purificam, extraem e industrializam lipases de microalgas. Elas apresentam vantagens sobre as lipases de outros organismos, por requerer condições nutricionais mínimas, consequentemente haverá redução de custos na sua produção (Brasil *et al.*, 2017). Ressalta-se que, como as microalgas podem ser cultivadas em efluentes, haverá redução dos custos para industrializar lipases de microalgas. Mas há que compreender e coordenar, como a produção de lipase será afetada pelas oscilações da densidade celular e produtividade de biomassa, que por sua vez é afetada pelas variações da temperatura.

Neste experimento, avaliou-se a atividade enzimática da lipase de *P. kessleri* cultivada em efluente de termoprocessamento de carne de frango, obteve-se no tratamento T10 a maior atividade

enzimática com, $0,0967 \pm 0,02$ U.ml. Seguido, pelos tratamentos T20 e T30 com, $0,0503 \pm 0,03$ e $0,0232 \pm 0$ U.ml estatisticamente semelhantes, respectivamente (Figura 11). Ao observar que, a atividade enzimática do inóculo, obteve-se $0,1276 \pm 0,01$ U.ml, valor superior ao final do experimento. O inóculo estava no 8º dia de cultivo e na fase exponencial de crescimento celular e, ao final do experimento estava no 13º dia de cultivo, pelo efeito da temperatura, cada tratamento estava em fases distintas de crescimento.

Figura 11 - Atividade enzimática da lipase da microalga *P. kessleri* cultivada em efluente de termoprocessamento de carne de frango. Os valores correspondem as médias \pm desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatística com $p > 0,05$.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O tratamento T20 estava na fase exponencial, o tratamento T30 na fase estacionária e o tratamento T10 estava na fase de declínio. Como as lipases são reconhecidas como enantiosseletividade, regiosseletividade e especificidade (Faruque; Razzak; Hossain, 2020) com seu substrato (lipídios) e, ao ocorrer alteração nele, haverá a ação de determinada lipase. Os lipídios são biomoléculas responsáveis por estruturar e reserva energética. Sua disposição será dependente das fases de crescimento, em que são sintetizados, remodelados e degradados rapidamente, sob variações da temperatura, luz e nutrientes (Khoo *et al.*, 2023; Kong *et al.*, 2018). Logo, haverá nesses processos a mediação de lipases. Em um estudo com *Saccharomyces cerevisiae*, obteve-se a fosfolipase A2 que atua na remodelação de lipídios de membrana e na biossíntese de triacilglicerol (TAG) nas gotículas lipídicas. Essa lipase, foi identificada na fase G1 tardia do ciclo celular (Kurat *et al.*, 2009). Assim, relação entre ciclo celular – lipídios – lipases em microalgas, requer ampliar os estudos sobre esta relação.

Em um estudo anterior com *P. kessleri* em efluente de termoprocessamento de carne frango, a autora investigara atividade enzimática da lipase, protease e α -amilase. Constatou-se que, até o sétimo dia de cultivo, houve presença de lipase na microalga e, no nono dia cultivo, não apresentava presença da lipase (Primo, 2022). Esses dados, não correlacionam com os deste experimento, analisou-se no início e no 13º dia de cultivo e, *P. kessleri* apresentava atividade enzimática da lipase ao final do experimento. Ao comparar a concentração apresentada neste experimento com outras espécies de microalgas e microrganismos, observa-se que estes são superiores aos obtidos *P. kessleri* neste experimento (Tabela 08). Dentre eles, a galactolipase da microalga *C. kessleri*, com uma atividade enzimática de 1.313U, ponto isoelétrico de 6-7, temperatura de 4 a 40°C e dependência por Ca^{2+} e Mn^{2+} . Devido sua alta atividade enzimática, ela poderá estar envolvida no metabolismo lipídico da membrana celular e do cloroplasto (Hashiro *et al.*, 2018). Corroborando com a hipótese, de que ao analisar a atividade enzimática nas fases do ciclo celular, bem como quais lipídios estão sendo requeridos pela célula, talvez possa ser uma maneira de compreender a dinâmica da síntese e ação das lipases.

Tabela 08 - Identificação de lipases em diferentes microrganismos com suas respectivas atividades enzimática. Os valores correspondem as médias ± desvio padrão e as letras minúsculas representam as diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p>0,05$).

ESPÉCIE	LIPASE	TIPO DE SUBSTRATO	Valor	UNIDADE DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA	REFERÊNCIA
<i>Chlorella kessleri</i>	Galactolipase	β - D - galactosil - sn- glicerol	1313	U	Hashiro <i>et al.</i> , 2018
<i>Scenedesmus sp. e</i>	Lipase	Palmitato <i>p</i> -nitrofenila	1,83	U. mL	Tang <i>et al.</i> , 2023
<i>Desmodesmus s sp.</i>	Lipase	Palmitato de <i>p</i> -nitrofenila	0,23	U. mL	Demir; Tükel, 2010
<i>Spirulina platensis</i>	Lipase	Butirato de <i>p</i> -nitrofenila	29,44±4,29	U. mL	Okino-Delgado <i>et al.</i> , 2022
<i>Aspergillus niger</i>	Lipase	Laurato de <i>p</i> -nitrofenila	90,39	U. mL	Rana <i>et al.</i> , 2024
<i>Bacillus subtilis</i>	Lipase	Ácido láurico	105,6	U. mL	Cui <i>et al.</i> , 2022
<i>Janibacter</i> sp	Lipase MAJ1				
<i>Parachlorella a kessleri</i>	Lipase	Laurato de <i>p</i> -nitrofenila	0,0967±0,02a* 0,0503±0,03a** 0,0232±0a***	U. mL	Este estudo

*Tratamento T10; **Tratamento T20, ***Tratamento T30.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Além de identificar, purificar, extrair as lipases de microalgas, terá que obter um método escalonável para otimizar o processamento e assim torná-la um produto comercial. Ademais, ao propor cultivar as microalgas para polimento de efluentes, trabalhará com volumes significativos de biomassa, independentemente de os ciclos serem semi-contínuo ou contínuo na ETE. Assim, ao obter lipase de *Scenedesmus* sp e *Desmodesmus* sp. com uma atividade enzimática de 1,83U.ml, os autores verificaram que a flotação bifásica líquida extraírá e purificará a lipase, obtive-se uma recuperação de 90,4%, os solventes poderão ser reciclados, logo reduzirá os custos da produção (Tang *et al.*, 2023).

5 CONCLUSÃO

Os tratamentos apresentaram uma fase *lag* longa no cultivo em efluente de termoprocessamento de carne de frango, necessitando de um período maior para adaptar. Constatou-se que, a temperatura de 20°C gerou a maior DCM, DOM e produtividade da biomassa. E obteve alta eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal com, 98,79% e, 95,67% para fósforo, alcançadas em tempos distintos no cultivo. Ambas as eficiências, alcançaram os limites estabelecidos pelas legislações ambientais vigentes.

Ao analisar o teor proteico e a atividade enzimática da lipase da microalga *P. kessleri*, não houve diferenças significativas entre as temperaturas verificadas. Entretanto, para prospectar e obter alta produtividade de proteínas ou lipases, requer que a cultura alcance uma alta densidade e produtividade e, estes foram alcançados na temperatura de 20°C;

Os dados apresentados neste experimento endossam a relevância do efeito da temperatura no cultivo de microalgas em efluentes, sobre a densidade e produtividade, bem como sobre a eficiência de remoção de nutrientes. Ressalta-se que, outros estudos devem ser desenvolvidos com a microalga *P. kessleri* sob a óptica da temperatura. Buscar identificar a faixa de temperatura ótima, bem como as temperaturas extremas, para manter densidade, produtividade e eficiência de remoção de nutrientes em efluente de termoprocessamento de carne frango.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nos dois capítulos desta dissertação, ressalta-se:

O cultivo de microalgas é uma atividade econômica em expansão que necessita de pesquisas para otimizar seus sistemas produtivos. Integrá-las nos sistemas de tratamento/polimento de efluentes é uma estratégia promissora, poderá corroborar para efetivar o conceito de economia circular e os Objetivos do Desenvolvimento sustentável. Entretanto, as variações sazonais e diárias da temperatura do local de cultivo irão influenciar a produtividade da biomassa microalgal, seus produtos e a eficiência de remoção de nutrientes.

O tempo de cultivo é um fator significativo na eficiência de remoção de N e P para tratar/polir efluentes com microalga *Parachlorella kessleri* sob efeito das temperaturas testadas, consequentemente para atender às legislações ambientais para lançamento destes nos corpos receptores. Há necessidade em encontrar maneiras que o sistema de cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* propicie uma eficiência de remoção de N e P em tempos de cultivos próximos. Recomenda-se avaliar diariamente esses parâmetros para obter em qual dia do cultivo haverá uma eficiência de remoção de N e P conforme as legislações;

Além do teor proteico, obter o proteoma e o perfil dos aminoácidos da *Parachlorella kessleri* para determinar ao nível molecular se haverá alteração na síntese de proteínas sob efeito de temperaturas. Já para a atividade enzimática da lipase, considera-se ampliar as técnicas de sua extração, purificação e análise, bem como intensificar pesquisas sobre a relação do ciclo celular, lipídios e lipases na microalga *Parachlorella kessleri*;

Ressalta-se que, em cultivos em áreas externas, as temperaturas não serão constantes como neste estudo, logo haverá flutuações na temperatura, bem como também na intensidade luminosa sobre o cultivo. Recomenda-se identificar a faixa de temperatura da *Parachlorella kessleri* tolera e correlacionar com a intensidade luminosa. A partir desta faixa de temperatura e luminosidade poderá buscar alternativas para manter crescimento celular e produtividade de biomassa do cultivo como: (i) controlar o pH do cultivo para identificar os processos de remoção de nutrientes do efluente e para manter crescimento e produtividade microalgal; (ii) inserir o monitoramento contínuo da temperatura e da radiação solar na área de cultivo e para identificar quando manter ou colher a cultura e, manter a produção do subproduto da biomassa microalgal eficiente; (iii) manter a temperatura a partir do volume do cultivo e; (iv) prospectar espécies tolerantes a temperaturas

extremas, alternando o cultivo para as espécies que manterão crescimento celular sob as variações de temperatura.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIÉN, F. G. *et al.* Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment? **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9013-9022, 2016.
- ADEKANMI, A. A.; ADEKANMI, A. S.; ADEKANMI, U. T. Biotreatment of Slaughterhouse Waste Water by Microalgae. **United Int. J. Res. Technol.**, v. 1, n. 9, p. 19-30, 2020.
- AHMAD, S. *et al.* Temperature dependent morphological changes on algal growth and cell surface with dairy industry wastewater: an experimental investigation. **3 Biotech**, v. 10, n. 1, p. 24, 2020.
- AKMUKHANOVA, N. R. *et al.* Determination of the promising microalgal strain for bioremediation of the aquaculture wastewater. **Microbiology**, v. 91, n. 5, p. 533-541, 2022.
- ALBI, T.; SERRANO, A. Inorganic polyphosphate in the microbial world. Emerging roles for a multifaceted biopolymer. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1-12, 2016.
- ALISAWI, H. A. O. Performance of wastewater treatment during variable temperature. **Applied Water Science**, v. 10, n. 4, p. 89, 2020.
- ANANTHI, V. *et al.* Impact of abiotic factors on biodiesel production by microalgae. **Fuel**, v. 284, p. 118962, 2021.
- APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21st ed. Washington: [s. n.], 2005.
- ARREDONDO-VEGA, B. O.; VOLTOLINA, D. **Métodos y Herramientas Analíticas en la Evaluación de la Biomasa Microalgal**. La Paz: [s. n.], 2007. E-book. Disponível em: <https://www.cibnor.gob.mx/libro-de-microalgas>. Acesso em: 04 fev. 2023.
- ARROJO, M. Á. *et al.* Potential of the microalgae *Chlorella fusca* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) for biomass production and urban wastewater phycoremediation. **AMB Express**, v. 12, n. 1, p. 1-14, 2022.
- BARATI, B. *et al.* Effect of elevated temperature on the physiological responses of marine *Chlorella* strains from different latitudes. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 1-13, 2018.
- BARTEN, R. *et al.* Towards industrial production of microalgae without temperature control: The effect of diel temperature fluctuations on microalgal physiology. **Journal of Biotechnology**, v. 336, p. 56-63, 2021.
- BAUENOVA, M. O. *et al.* Optimising microalgae-derived butanol yield. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 49, p. 593-601, 2024.

BEIGBEDER, J.B.; BOBOESCU, I.Z.; LAVOIE, J.M. Thin stillage treatment and co-production of bio-commodities through finely tuned *Chlorella vulgaris* cultivation. **Journal of cleaner production**, v. 216, p. 257-267, 2019.

BEIGBEDER, Jean-Baptiste *et al.* CO₂ capture and inorganic carbon assimilation of gaseous fermentation effluents using *Parachlorella kessleri* microalgae. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 50, p. 101581, 2021.

BELLO, A. S.; SAADAOUI, I.; BEN-HAMADOU, R. "Beyond the source of bioenergy": microalgae in modern agriculture as a biostimulant, biofertilizer, and anti-abiotic stress. **Agronomy**, v. 11, n. 8, p. 1610, 2021.

BEN BACHA, A. *et al.* Biochemical Study of *Bacillus stearothermophilus* Immobilized Lipase for Oily Wastewater Treatment. **Processes**, v. 10, n. 11, p. 2220, 2022.

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

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, 2013.

BRASIL, B. dos S. A. F. *et al.* Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. **Algal Research**, v. 25, p. 76-89, 2017.

CARNEIRO, M. *et al.* Effect of temperature on growth, photosynthesis and biochemical composition of *Nannochloropsis oceanica*, grown outdoors in tubular photobioreactors. **Algal Research**, v. 49, p. 101923, 2020.

CHANDRA, R. *et al.* Algal biorefinery: a sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 346-359, 2019.

CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based nitrogen bioremediation. **Algal Research**, v. 46, p. 101775, 2020.

CHOWDURY, K. H.; NAHAR, N.; DEB, U. K. The growth factors involved in microalgae cultivation for biofuel production: a review. **Computational Water, Energy, and Environmental Engineering**, v. 9, n. 4, p. 185-215, 2020.

CHRISPIM, M. C.; SCHOLZ, M.; NOLASCO, M. A. Phosphorus recovery from municipal wastewater treatment: Critical review of challenges and opportunities for developing countries. **Journal of environmental management**, v. 248, p. 109268, 2019.

CHRISTENSEN, M. L. *et al.* Precipitation and recovery of phosphorus from the wastewater hydrolysis tank. **Science of the Total Environment**, v. 813, p. 151875, 2022.

CORDEIRO, E. C. N. *et al.* Microalga biofertilizer triggers metabolic changes improving onion growth and yield. **Horticulturae**, v. 8, n. 3, p. 223, 2022.

CUI, R. *et al.* A novel sn-1, 3 specific lipase from *Janibacter* sp. as catalysts for the high-yield synthesis of long-medium-long type structured triacylglycerols. **Food Chemistry**, v. 366, p. 130523, 2022.

DADA, S. O. *et al.* Innovative Approaches to Poultry Processing Wastewater Treatment: The Stainless Steel Ultrafiltration Membrane as a Viable Option. **Membranes**, v. 13, n. 11, p. 880, 2023.

DEMIR, B. S.; TÜKEL, S. S. Purification and characterization of lipase from *Spirulina platensis*. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 64, n. 3-4, p. 123-128, 2010.

DERNER, R. B. **Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Thalassiosira fluviatilis*, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

ENZYMES market by product type (industrial enzymes and specialty enzymes), source (microorganism, plant, and animal), type, industrial enzyme application, specialty enzymes application and region - Global Forecast to 2027. Marketsandmarkets. Reino Unido, set. de 2022. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/enzyme-market46202020.html> Acesso em: 14 dez. 2022.

ERBLAND, P. *et al.* Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. **Aquacultural Engineering**, v. 90, p. 102103, 2020.

ERMILOVA, E.. Cold stress response: an overview in *Chlamydomonas*. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 569437, 2020.

FARUQUE, M. O.; RAZZAK, S. A.; HOSSAIN, M. M. Application of heterogeneous catalysts for biodiesel production from microalgal oil—a review. **Catalysts**, v. 10, n. 9, p. 1025, 2020.

FAZAL, T. *et al.* Integrating bioremediation of textile wastewater with biodiesel production using microalgae (*Chlorella vulgaris*). **Chemosphere**, v. 281, p. 130758, 2021.

FIELDS, F. J. *et al.* Annual productivity and lipid composition of native microalgae (Chlorophyta) at a pilot production facility in Southern California. **Algal Research**, v. 56, p. 102307, 2021.

FILALI, R. *et al.* Evaluation of the growth performance of microalgae based on fine pH changes. **Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering**, v. 8, n. 1, 2021.

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

GÓMEZ-PÉREZ, C. A.; ESPINOSA, J.; MONTENEGRO-RUIZ, L. C. *Parachlorella kessleri* growth kinetics modeling with physiological output variables evaluation. **Algal Research**, v. 60, p. 102507, 2021.

GOODENOUGH, U. *et al.* Acidocalcosomes: ultrastructure, biogenesis, and distribution in microbial eukaryotes. **Protist**, v. 170, n. 3, p. 287-313, 2019.

GOSWAMI, R. K. *et al.* Bioremediation of heavy metals from wastewater: a current perspective on microalgae-based future. **Letters in Applied Microbiology**, v. 75, n. 4, p. 701-717, 2022.

HAMDAN, S. H. *et al.* Thermostable lipases and their dynamics of improved enzymatic properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**, p. 1-26, 2021

HAN, T. *et al.* Two-step strategy for obtaining *Dunaliella* sp. biomass and β-carotene from anaerobically digested poultry litter wastewater. **International Biodegradation & Biodegradation**, v. 143, p. 104714, 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, p. 1711-1723, 2018.

HE, T. *et al.* Removal of nitrate in simulated water at low temperature by a novel psychrotrophic and aerobic bacterium, *Pseudomonas taiwanensis* Strain J. **BioMed Research international**, v. 2018, 2018.

HE, Z. *et al.* Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in swine wastewater: Nitrogen and phosphorus removal and microalgal growth. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 179, p. 887-895, 2023.

HO, S. *et al.* Combining light strategies with recycled medium to enhance the economic feasibility of phycocyanin production with *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 669-675, 2018.

HO, S.H. *et al.* Waste biorefineries—integrating anaerobic digestion and microalgae cultivation for bioenergy production. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 50, p. 101-110, 2018.

HÜNER, N. PA *et al.* Photosynthetic adaptation and multicellularity in the Antarctic psychrophile, *Chlamydomonas priscuii*. **Algal Research**, p. 103220, 2023.

INOSTROZA, C. *et al.* Uses of electro-coagulation-flocculation (ECF) for the pre-concentration of microalgae biomass. **Process Biochemistry**, v. 122, p. 1-7, 2022.

ISHIKAWA-ISHIWATA, Y. *et al.* Growth characteristics and fatty acids of the thermotolerant green alga *Desmodesmus* sp. isolated from a freshwater puddle in Ibaraki, Japan. **Plankton and Bentos Research**, v. 18, n. 2, p. 74-83, 2023.

IZQUIERDO, P. F.; CORAL, M. P.; BENAVIDES, F. O. Application of an artificial neural network coupled to a genetic algorithm for the production of polyphenols in *Parachlorella kessleri* grown under mixotrophic conditions. **Algal Research**, v. 77, p. 103331, 2024.

JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. Microalgae based production of single-cell protein. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 75, p. 102705, 2022.

JEBALI, A. *et al.* Trait drift in microalgae and applications for strain improvement. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 108034, 2022.

JIANG, Y.; CHEN, F. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalgae *Cryptocodinium cohnii*. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, p. 613-617, 2000.

JUNEJA, A.; CEBALLOS, R. M.; MURTHY, G. S. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: a review. **Energies**, v. 6, n. 9, p. 4607-4638, 2013.

KATIRCIOĞLU SINMAZ, G.; ERDEN, B.; ŞENGİL, I. 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**, v. 20, n. 3, p. 3237-3246, 2023.

KHOO, K. S. *et al.* Enhanced microalgal lipid production for biofuel using different strategies including genetic modification of microalgae: A review. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 96, p. 101071, 2023.

KINUTHIA, G. K. *et al.* Levels of heavy metals in wastewater and soil samples from open drainage channels in Nairobi, Kenya: community health implication. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 8434, 2020.

KONG, F. *et al.* Lipid catabolism in microalgae. **New Phytologist**, v. 218, n. 4, p. 1340-1348, 2018.

KÖRNER, S. *et al.* The effect of pH variation at the ammonium/ammonia equilibrium in wastewater and its toxicity to *Lemna gibba*. **Aquatic Botany**, v. 71, n. 1, p. 71-78, 2001.

KOTZ, M. *et al.* Day-to-day temperature variability reduces economic growth. **Nature Climate Change**, v. 11, n. 4, p. 319-325, 2021.

KRIENITZ, L. *et al.* Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov.(Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Phycologia**, v. 43, n. 5, p. 529-542, 2004.

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, 2020.

KURAT, C. F. *et al.* Cdk1/Cdc28-dependent activation of the major triacylglycerol lipase Tgl4 in yeast links lipolysis to cell-cycle progression. **Molecular Cell**, v. 33, n. 1, p. 53-63, 2009.

KUSMAYADI, A. *et al.* Integrating anaerobic digestion and microalgae cultivation for dairy wastewater treatment and potential biochemicals production from the harvested microalgal biomass. **Chemosphere**, v. 291, p. 133057, 2022.

LEE, K.; LEE, C.G. Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 6, p. 194-199, 2001.

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, 2022.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos, SP: RiMa, 2006.

MALHI, G. S.; KAUR, M.; KAUSHIK, P. Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. **Sustainability**, v. 13, n. 3, p. 1318, 2021.

MANJUNATH, S. V.; YAKSHITH, B. R.; MEGHASHREE, M. Synergistic analysis for co-treatment of poultry wastewater and sewage in electro-chemical system: operational parameters, kinetics and energy estimation. **Results in Engineering**, v. 19, p. 101275, 2023.

MANOYAN, J. *et al.* Growth characteristics, biohydrogen production and photochemical activity of photosystems in green microalgae *Parachlorella kessleri* exposed to nitrogen deprivation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 47, n. 38, p. 16815-16823, 2022.

MANOYAN, J. *et al.* Regulation of biohydrogen production by protonophores in novel green microalgae *Parachlorella kessleri*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 199, p. 111597, 2019.

MANTHOS, G. *et al.* Mathematical Modeling of Microalgal Growth during Anaerobic Digestion Effluent Bioremediation. **Water**, v. 14, n. 23, p. 3938, 2022.

MARZZOCO, A. **Bioquímica básica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

MOCK, T.; VALENTIN, K. Photosynthesis and cold acclimation: molecular evidence from a polar diatom. **Journal of Phycology**, v. 40, n. 4, p. 732-741, 2004.

MORALES-AMARAL, M. *et al.* Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 12, p. 99-108, 2015.

MORILLAS-ESPAÑA, A. *et al.* Annual production of microalgae in wastewater using pilot-scale thin-layer cascade photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 6, p. 3861- 3871, 2021.

MUSETSHO, P. *et al.* Valorization of poultry litter using *Acutodesmus obliquus* and its integrated application for lipids and fertilizer production. **Science of The Total Environment**, v. 796, p. 149018, 2021.

NAGI, M. *et al.* Utilization of tannery wastewater for biofuel production: New insights on microalgae growth and biomass production. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1530, 2020.

NEVES, F. de F. **Fixação de carbono através de microalgas nativas (*Chlamydomonas* sp.) cultivadas em diferentes concentrações de CO₂.** Tese (Doutorado Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

NOMAGUCHI, T. *et al.* Comprehensive analysis of triacylglycerol lipases in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 with transcriptomics under lipid degradation. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 126, n. 2, p. 258-265, 2018.

NOVOVÉSKÁ, L. *et al.* Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. **Marine Drugs**, v. 21, n. 8, p. 445, 2023.

OKINO-DELGADO, C. H. *et al.* Evaluation of the influence of chemical and physical factors on mixtures of fungal and plant lipases. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, p. e20201268, 2022.

OLABI, A. G. *et al.* Role of microalgae in achieving sustainable development goals and circular economy. **Science of The Total Environment**, v. 854, p. 158689, 2023.

OLIVEIRA, A. C.; BARATA, A.; BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L. *Scenedesmus obliquus* in poultry wastewater bioremediation. **Environmental Technology**, v. 40, n. 28, p. 3735-3744, 2019.

OSUNDEKO, O. *et al.* Acclimation of microalgae to wastewater environments involves increased oxidative stress tolerance activity. **Plant and Cell Physiology**, v. 55, n. 10, p. 1848-1857, 2014.

OVIEDO, J. A. *et al.* A half-century of research on microalgae-bacteria for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 67, p. 102828, 2022.

PAHIJA, E.; HUI, C.W. A systematic study on the effects of dynamic environments on microalgae concentration. **Algal Research**, v. 42, p. 101599, 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. **Food Science and Technology**, v. 23, p. 135-140, 2003.

PERERA, I. A. *et al.* Co-culturing of microalgae and bacteria in real wastewaters alters indigenous bacterial communities enhancing effluent bioremediation. **Algal Research**, v. 64, p. 102705, 2022.

PETER, A. P. *et al.* Continuous cultivation of microalgae in photobioreactors as a source of renewable energy: Current status and future challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, p. 111852, 2022.

PETROVA, N. Z. *et al.* Enhancing biophotovoltaic efficiency: Study on a highly productive green algal strain *Parachlorella kessleri* MACC-38. **Bioresource Technology**, v. 394, p. 130206, 2024.

PIERSON, J. *et al.* Modeling the Production of Microalgal Biomass in Large Water Resource Recovery Facilities and Its Processing into Various Commodity Bioproducts. **Fermentation**, v. 9, n. 10, p. 909, 2023.

PITAWALA, S. *et al.* Variation of the photosynthesis and respiration response of filamentous algae (*Oedogonium*) acclimated to averaged seasonal temperatures and light exposure levels. **Algal Research**, v. 74, p. 103213, 2023.

PLUMBER, H. S.; KIEPPER, B. H. Impact of poultry processing by-products on wastewater generation, treatment and discharges. In: Proceedings of the 2011 **Georgia Water Resources Conference**. 2011. p. 11-13.

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, 2011.

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

PRIMO, T. A. R. C. **O cultivo da microalga *Parachlorella kessleri* como alternativa para a remoção de nitrogênio de efluente de indústria de processamento de frango.** Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais. Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages. 2022.

QU, R. *et al.* Metabolomics reveals the inhibition on phosphorus assimilation in *Chlorella vulgaris* F1068 exposed to AgNPs. **Science of The Total Environment**, v. 770, p. 145362, 2021.

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, 2019.

QUIROZ-ARITA, C. *et al.* Bioproducts from high-protein algal biomass: an economic and environmental sustainability review and risk analysis. **Sustainable Energy & Fuels**, v. 6, n. 10, p. 2398-2422, 2022.

RABBANI, G. *et al.* Structural features, temperature adaptation and industrial applications of microbial lipases from psychrophilic, mesophilic and thermophilic origins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 225, p. 822-839, 2023.

RAJTA, A. *et al.* Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater. **Journal of applied microbiology**, v. 128, n. 5, p. 1261-1278, 2020.

RANA, Q. *et al.* Utilization of microalgae for agricultural runoff remediation and sustainable biofuel production through an integrated biorefinery approach. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 11, n. 1, p. 8, 2024.

RAO, N. R. H. *et al.* The influence of physical floc properties on the separation of marine microalgae via alkaline flocculation followed by dissolved air flotation. **Algal Research**, v. 71, p. 103024, 2023.

RATHOD, J. P. *et al.* Trehalose phosphate phosphatase overexpression for the mitigation of highlight induced stress in *Parachlorella kessleri*. **Algal Research**, v. 72, p. 103121, 2023.

REMONATTO, D. *et al.* Applications of immobilized lipases in enzymatic reactors: A review. **Process Biochemistry**, 2022.

REN, Z. *et al.* Study on adsorption of ammonia nitrogen by iron-loaded activated carbon from low temperature wastewater. **Chemosphere**, v. 262, p. 127895, 2021.

RESMAN, L. *et al.* Microalgae Production on Biogas Digestate in Sub-Alpine Region of Europe—Development of Simple Management Decision Support Tool. **Sustainability**, v. 15, n. 24, p. 16948, 2023.

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**, vol. 8, p. 61–68, Mar. 2015.

SALAMA, El-Sayed *et al.* Enhancement of microalgal growth and biocomponent-based transformations for improved biofuel recovery: a review. **Bioresource Technology**, v. 258, p. 365-375, 2018.

SALBITANI, G.; CARFAGNA, S. Ammonium utilization in microalgae: A sustainable method for wastewater treatment. **Sustainability**, v. 13, n. 2, p. 956, 2021.

SALEH-LAKHA, S. *et al.* Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in *Pseudomonas mandelii*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 12, p. 3903-3911, 2009.

SÁNCHEZ-ZURANO, A. *et al.* Abaco: a new model of microalgae-bacteria consortia for biological treatment of wastewaters. **Applied Sciences**, v. 11, n. 3, p. 998, 2021.

SANTA CATARINA. CONSEMA. Resolução CONSEMA nº 182, de 06 de agosto de 2021, que “Estabelece as diretrizes para os padrões de lançamento de esgotos domésticos de sistemas de tratamento públicos e privados”. Florianópolis , SC, Disponível em: <https://www.vigilanciasanitaria.sc.gov.br/index.php/legislacao-lista-categoria/14-legislacao-por-assunto/22-saude-ambiental/262-estacoes-de-tratamento-de-esgoto.html> Acesso em: 02fev. 2024.

SANZ-LUQUE, E. *et al.* Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 163887, 2015.

SANZ-LUQUE, E.; BHAYA, D.; GROSSMAN, A. R. Polyphosphate: a multifunctional metabolite in cyanobacteria and algae. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 557161, 2020.

SATHYA, R. *et al.* Towards sustainable wastewater treatment by biological methods—A challenges and advantages of recent technologies. **Urban Climate**, v. 47, p. 101378, 2023.

SCHAEDIG, E. *et al.* Isolation of phosphorus-hyperaccumulating microalgae from revolving algal biofilm (RAB) wastewater treatment systems. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1219318, 2023.

SENA, M. *et al.* Environmental impacts of phosphorus recovery through struvite precipitation in wastewater treatment. **Journal of Cleaner Production**, v. 280, p. 124222, 2021.

SHARMA, A. K.; PARUL; THIYAM, G. 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, 2019.

SHEIK, A. G.; SEEPANA, M. M.; AMBATI, S. R. A model-based approach to study the effect of temperature in plant-wide biological wastewater treatment plants. **Journal of Water Chemistry and Technology**, v. 44, n. 3, p. 182-190, 2022.

SILVA, P. A. da. **Influência dos elementos climáticos e tipologia em fotobiorreatores microalgaicis.** 2022. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2022. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/25284/DIS_PPGCTA_2022_SILVA_PATRICIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 02 fev.2024.

SINGH, H. M. *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, 2020.

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, 2015.

SKORUPSKAITE, V.; MAKAREVICIENE, V.; SENDZIKIENE, E.; GUMBYTE, M. Microalgae *Chlorella* sp. cell disruption efficiency utilising ultrasonication and ultrahomogenisation methods. **Journal of Applied Phycology**, vol. 31, no. 4, p. 2349–2354, 14 Aug. 2019.

SLOCOMBE, S. P. *et al.* Overexpression of PSR1 in *Chlamydomonas reinhardtii* induces luxury phosphorus uptake. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1208168, 2023.

SLOCOMBE, Stephen P. et al. Fixing the broken phosphorus cycle: wastewater remediation by microalgal polyphosphates. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 982, 2020.

SOLOVCHENKO, A. E. *et al.* Luxury phosphorus uptake in microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2755-2770, 2019.

SOLOVCHENKO, A. *et al.* Phosphorus feast and famine in cyanobacteria: is luxury uptake of the nutrient just a consequence of acclimation to its shortage?. **Cells**, v. 9, n. 9, p. 1933, 2020.

SOLOVCHENKO, A. *et al.* Phosphorus starvation and luxury uptake in green microalgae revisited. **Algal Research**, v. 43, p. 101651, 2019.

SONG, X. *et al.* Lipid accumulation by a novel microalga *Parachlorella kessleri* R-3 with wide pH tolerance for promising biodiesel production. **Algal Research**, v. 69, p. 102925, 2023.

SOUZA, L.L. *et al.* Análise bibliométrica das aplicações ambientais das microalgas: uma revisão. **Revista Latinoamericana Ambiente e Saúde**, v. 5, n. 3 (especial), p. 382-389, 2023.

SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144590, 2021.

TANG, D. Y. Y. *et al.* Investigation and screening of mixed microalgae species for lipase production and recovery using liquid biphasic flotation approach. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 142, p. 104646, 2023.

TAWFIK, A. *et al.* Cultivation of microalgae on liquid anaerobic digestate for depollution, biofuels and cosmetics: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 20, n. 6, p. 3631-3656, 2022.

TEMPLETON, D.W., LAURENs, L.M. Nitrogen-to-protein conversion factors revisited for applications of microalgal biomass conversion to food, feed and fuel. **Algal Research**, 11, 359-367, 2015.

THORÉ, E. S.J *et al.* Waste is the new wealth—recovering resources from poultry wastewater for multifunctional microalgae feedstock. **Frontiers in Environmental Science**, v. 9, p. 679917, 2021.

THORÉ, E. S.J *et al.* Real-time monitoring of microalgal biomass in pilot-scale photobioreactors using nephelometry. **Processes**, v. 9, n. 9, p. 1530, 2021.

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. Report of the Conference of the Parties on its twenty-first session, held in Paris from 30 November to 13 December 2015. **Disponível em:** https://www.un.org/en/development/desa/population/migration/generalassembly/docs/globalcompact/FCCC_Cp_2015_10_Add.1.pdf **Disponível em:** 20 fev. 2024.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Livestock and Poultry: World Markets and Trade.2023. **Disponível em:** https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf **Acesso em:** 20 jan. 2024.

VAN DE WALLE, S. *et al.* Innovative vs classical methods for drying heterotrophic **Chlorella vulgaris**: Impact on protein quality and sensory properties. **Food Research International**, p. 114142, 2024.

VARGAS, L. B. *et al.* Application of a tannin-based coagulant for harvesting *Parachlorella kessleri* microalgae cultivated in chicken meat thermal processing wastewater. **Aquaculture International**, v. 32, n. 1, p. 461-476, 2024.

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, 2021.

VINGIANI, G. M. *et al.* Microalgal enzymes with biotechnological applications. **Marine Drugs**, v. 17, n. 8, p. 459, 2019.

VLADIĆ, J. *et al.* Application of green technology to extract clean and safe bioactive compounds from *Tetradesmus obliquus* biomass grown in poultry wastewater. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2397, 2023.

WANG, Q. *et al.* Microalgae Can Promote Nitrification in Poultry-Processing Wastewater in the Presence and Absence of Antimicrobial Agents. **ACS ES&T Engineering**, v. 3, n. 4, p. 568-579, 2023.

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, 2021.

XU, K. *et al.* Effects of multi-temperature regimes on cultivation of microalgae in municipal wastewater to simultaneously remove nutrients and produce biomass. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 8255-8265, 2019.

XU, K. *et al.* The impact of seasonal variations about temperature and photoperiod on the treatment of municipal wastewater by algae-bacteria system in lab-scale. **Algal Research**, v. 54, p. 102175, 2021.

YAAKOB, M. A. *et al.* Influence of nitrogen and phosphorus on microalgal growth, biomass, lipid, and fatty acid production: an overview. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 393, 2021.

YANG, J. *et al.* Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 159-165, 2011.

YOUNG, P. *et al.* Autoflocculation of microalgae, via magnesium hydroxide precipitation, in a high rate algal pond treating municipal wastewater in the South Australian Riverland. **Algal Research**, v. 59, p. 102418, 2021.

YOUNG, P.; TAYLOR, M.; FALLOWFIELD, H. J. Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 1-13, 2017.

YU, H. *et al.* Effects of different pH control strategies on microalgae cultivation and nutrient removal from anaerobic digestion effluent. **Microorganisms**, v. 10, n. 2, p. 357, 2022.

- ZACHLEDER, V. *et al.* Supra-optimal temperature: An efficient approach for overaccumulation of starch in the green alga *Parachlorella kessleri*. **Cells**, v. 10, n. 7, p. 1806, 2021.
- ZAFAR, A. M.; JAVED, M. A.; HASSAN, A. A. Unprecedented biodesalination rates—Shortcomings of electrical conductivity measurements in determining salt removal by algae and cyanobacteria. **Journal of Environmental Management**, v. 302, p. 113947, 2022.
- ZERVEAS, S. *et al.* Microalgal photosynthesis induces alkalization of aquatic environment as a result of H⁺ uptake independently from CO₂ concentration—New perspectives for environmental applications. **Journal of Environmental Management**, v. 289, p. 112546, 2021.
- ZHANG, Z. *et al.* Bacterial-algal coupling system for high strength mariculture wastewater treatment: Effect of temperature on nutrient recovery and microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 338, p. 125574, 2021.
- ZHANG, Z. *et al.* Elucidating temperature on mixotrophic cultivation of a *Chlorella vulgaris* strain: Different carbon source application and enzyme activity revelation. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123721, 2020.