

Monitoramento da biomassa e da comunidade de microalgas e cianobactérias nativas de esgoto de alta carga em fotobiorreator do tipo flat panel

***Monitoring of high-load sewage biomass and native microalgae and cyanobacteria community in a flat panel photobioreactor***

Letícia Alves Martins de Carvalho<sup>1</sup>; Caroline Moço Erba Pompei<sup>2</sup>, Hugo Renan Bolzani<sup>2</sup> e Gustavo Henrique Ribeiro da Silva<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Bauru, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Civil e Ambiental. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Bauru, São Paulo, Brasil.

E-mail do autor correspondente: [caroline\\_erba@yahoo.com.br](mailto:caroline_erba@yahoo.com.br)

## RESUMO

A fitorremediação do esgoto sanitário é uma alternativa financeira e ecologicamente sustentável para o reúso e reciclagem de recursos naturais, como água, energia e nutrientes. Em comparação às culturas puras introduzidas em esgoto sanitário, o uso de microalgas e cianobactérias nativas do esgoto sanitário pode apresentar taxas de produtividade de biomassa algal e uma maior estabilidade do sistema. Este estudo investigou, em escala piloto, o crescimento e composição da comunidade de microalgas e cianobactérias nativas em ambiente externo, suscetível a variações diárias nos fatores bióticos e abióticos não-controlados em fotobiorreator tipo *flat panel*. O experimento foi realizado em regime de três bateladas, segmentadas em duas de início, meio e fim e uma com análises e coletas diárias no decorrer dos 7 dias de cultivo. Parâmetros como densidade celular, densidade óptica, clorofila-*a*, luminosidade, valor de pH, temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados, concomitante a identificações taxonômicas da flórua nativa. Dezenove táxons foram identificados, divididos em 3 classes: *Chlorophyceae*, *Cyanophyceae* e *Bacillariophyceae*. A média de intensidade luminosa mais elevada registrada ( $2626 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), conjuntamente a outros parâmetros como valor de pH, ausência de precipitação, predação, temperatura ambiente e do líquido, influenciaram na menor densidade celular ( $4,69 \times 10^4$  célula.  $\text{mL}^{-1}$ ). Paralelamente, as intensidades luminosas menores propiciaram elevada densidade celular ( $1,35 \times 10^7$  e  $1,56 \times 10^7$ ) e concentração de clorofila-*a* ( $488,57$  e  $3406,79 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), demonstrando a importância de uma compreensão nítida dos fatores ambientais e biodiversidade nativa ante a aplicação de microalgas e cianobactérias para o tratamento de esgoto sanitário.

Palavras-chave: Biorremediação; Luminosidade; Tratamento Biológico.

## ABSTRACT

*Phytoremediation in the sanitary sewage system is a financially and ecologically sustainable alternative for the reuse and recycling of natural resources, such as water, nutrients, and energy. Compared to pure cultures introduced into sanitary sewage, the use of microalgae and cyanobacteria native to sanitary sewage can present higher algal biomass productivity. This study investigated, on a pilot scale, the growth and composition of the community of microalgae and native cyanobacteria in an outdoor environment, susceptible to daily variations in non-controlled biotic and abiotic factors in a flat panel photobioreactor. The experiment was conducted in a regime of three batches, segmented into two at the beginning, middle, and end and one with daily analyzes during the seven days of cultivation. Parameters such as cell density, optical density, chlorophyll-a, luminosity, pH value, temperature, and dissolved oxygen were monitored, concomitantly with taxonomic identifications of the native flora. Nineteen taxons were identified and divided into three classes: Chlorophyceae, Cyanophyceae, and Bacillariophyceae. The highest light intensity recorded ( $2626 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), along with other parameters such as pH value, absence of rainfall, predation, ambient and liquid temperature, had an influence on the lowest cell density ( $4.69 \times 10^4 \text{ cell}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). At the same time, the lowest light intensities provided high cell density ( $1.35 \times 10^7$  and  $1.56 \times 10^7$ ) and chlorophyll-a concentration ( $488.57$  and  $3406.79 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), demonstrating the importance of clearly understanding the environmental factors and native biodiversity before the application of microalgae and cyanobacteria for sewage treatment.*

**Keywords:** *Bioremediation; Luminosity; Biological Treatment.*

## 1. INTRODUÇÃO

A necessidade de ser mais eficiente em termos de utilização de recursos e dispersão de constituintes antropogênicos no meio ambiente se tornou um tema central no saneamento básico e em praticamente todos os aspectos da sociedade (Metcalf & Eddy, 2016). A exigência de mudar o atual paradigma de saneamento tem sido motivada não apenas pelos custos e consumo de energia, mas também pelo esgotamento mundial de macronutrientes não renováveis (Bats-tone et al., 2015).

No Brasil, o panorama da coleta e tratamento do esgoto é preocupante, com cerca de 50,9% das águas residuais descartadas *in natura* nos mananciais (SNIS, 2019), podendo acarretar danos aos ecossistemas aquáticos e a saúde pública. As águas residuárias, provenientes de casas, agricultura, fazendas de laticínios e indústrias são ricas em nitrogênio (N), fósforo (P), micronutrientes e outros componentes orgânicos (Makut et al., 2019). Logo, tanto o P quanto o N têm valor e significado crucial: como macronutrientes importantes, há recursos a serem recuperados; e como poluentes ambientais, existem emissões a serem minimizadas (Dorothee et al., 2020).

Como o tratamento secundário com tecnologias aeróbias ou anaeróbias não removem constituintes inorgânicos (como N e P), se faz necessária a adição de mais uma etapa: o tra-

tamento terciário, que pode intercorrer por processos físico-químicos ou biológicos. Um processo biológico em evidência é o emprego de microalgas no tratamento de esgoto sanitário, que representa uma alternativa biotecnológica, sustentável e econômica (Ruas et al., 2017). O biotratamento com microalgas é particularmente atrativo em decorrência de sua capacidade fotossintética, convertendo energia solar em biomassa algal e incorporando N e P em biomassa (De La Noüe & De Pauw, 1988).

A principal preocupação ao cultivar microalgas é selecionar uma espécie que se adapte bem às condições selecionadas em diferentes ambientes como, por exemplo, luz e nutrientes (Hodgskiss et al., 2016). Em condições ambientais naturais, as microalgas e cianobactérias são frequentemente encontradas em associação com outros microrganismos aeróbios ou anaeróbios (Subashchandrasekhar et al., 2011). Deste modo, todo esgoto sanitário não esterilizado contém uma ampla biodiversidade que pode ser eficientemente aplicada ao pós-tratamento. Há relatos na literatura de altas taxas de produtividade e remoção satisfatórias de nutrientes (80-100%) a partir do consórcio microalga-bactéria nativo (Alcántara et al. 2015, Rodolfi et al., 2009; Thomas et al., 2019).

Estudos recentes investigam parâmetros ambientais em fotobiorreatores para o uso em larga escala (Serra-Maia et al., 2016; Arcila & Buitrón, 2017; Hong et al., 2017; Zheng et al., 2021). Dentre esses fatores, o impacto da luminosidade, como a fotoinibição e foto limitação, oscilações no valor de pH, oxigênio dissolvido e temperatura do ambiente e líquido são extensivamente acompanhados. Desta forma, acompanhar a fisiologia microalgal ante oscilações ambientais permite a otimização na produção de biomassa e efetiva remoção de nutrientes.

Ademais, as microalgas e cianobactérias possuem uma enorme biodiversidade e distribuição por todos os nichos, fazendo com que sejam necessárias pesquisas de cunho taxonômico para compreender melhor a flórmula de algas e cianobactérias. A partir de águas residuárias domésticas produzidas no sudeste do Brasil, diferentes táxons de microalgas nativas são relatados na literatura, como *Chlorococcum sp.*, *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp.* e *Tetrademus sp.* (Pereira et al., 2018) e cianobactérias como *Oscillatoria* e *Lyngbya* (Albuquerque et al., 2019).

Para o cultivo de microalgas e cianobactérias podem ser utilizados tanto sistemas de reatores abertos quanto fechados, como o *flat panel*. A escolha do tipo de reator depende, por exemplo, do objetivo a ser alcançado e das condições do local de instalação. Lakaniemi et al. (2012) concluíram em seu estudo que é necessário compreender as relações entre microrganismos em fotobiorreatores para que a taxa de produção de biomassa seja maior.

Dentro deste contexto, o presente estudo visou monitorar o crescimento da biomassa em fotobiorreator tipo *flat panel* (FP) durante três bateladas com duração 7 dias cada uma – sendo duas monitoradas durante o início, meio e fim, e uma com análises diárias. Também foi realizada a identificação ao nível de gênero das microalgas e das cianobactérias presentes no cultivo.

Ademais, foram avaliados fatores bióticos para estimar o crescimento, comparando-os com variáveis ambientais, tais como luminosidade, valor de potencial hidrogeniônico (pH), temperatura e oxigênio dissolvido (OD).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Local de estudo e esgoto sanitário utilizado

O esgoto sanitário utilizado neste estudo foi previamente tratado por um sistema anaeróbio - Filtro anaeróbio de fluxo ascendente (FAFA) que compõe o sistema da ETE do distrito de Tibiriçá, município de Bauru – SP. O esgoto sanitário foi coletado semanalmente pós FAFA, transportado para a UNESP/FEB (Faculdade de Engenharia de Bauru) e adicionado ao fotobiorreator do tipo *flat panel*, nas seguintes proporções: 45 litros de esgoto, anaerobiamente tratado com mais 5 litros do inóculo da batelada anterior, utilizado para aclimação, totalizando 50 L.

### 2.2 Configurações operacionais

O fotobiorreator de sistema fechado tipo FP, com dimensões de 120x60x10 cm (Figura 1), foi confeccionado em acrílico, com tampa removível e apoiado em um suporte de madeira. Um registro de drenagem na base da caixa, uma entrada para alimentação e um vertedor na fase oposta garantiram a manutenção total do fotobiorreator.

O esgoto sanitário foi inoculado ao FP nas proporções de: 45 litros de esgoto anaerobiamente tratado, homogeneizados a 5 litros referentes ao inóculo utilizado para aclimação das microalgas, totalizando 50 L. Dois compressores (*Seven Star – S 6000*) realizaram a injeção contínua de ar comprimido com vazão mantida em  $5 \text{ L min}^{-1}$ , com uma mangueira microporosa utilizada para piscicultura (*Aquadrop Air*, modelo M25) em cada extremidade, totalizando  $10 \text{ L min}^{-1}$ . A mangueira, com diâmetro interno de 16 mm e 5 mm de espessura, foi instalada ao fundo do fotobiorreator a fim de garantir a aeração e suspensão/agitação da biomassa algal.

### 2.3 Parâmetros monitorados

Parâmetros abióticos tais como o valor de pH, temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e OD ( $\text{mg. L}^{-1}$ ) foram monitorados diariamente por sistema automatizado. Os dados foram coletados em intervalos de 1 minuto e enviados para um cartão micro SD. O centro de controle foi um microcontrolador AVR (Arduino Nano), sendo acoplado pelos módulos, sensores e eletrodos (*datalogger*, módulo relógio RTC, módulo cartão micro SD, módulo do OD, módulo do pH e módulo de temperatura). A luminosidade ( $\mu\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-2}$ ) foi medida por um sensor *Hobo Pendant UA-002-64*.

A densidade óptica foi mensurada em espectrofotômetro *Nanocolor UV/VIS II* (Macherey-Nagel, Duren, Alemanha), de acordo com Kliphuis *et al.* (2010), nos comprimentos de onda de 540 nm, 682 nm e 750 nm. A escolha dos comprimentos de onda se deve à falta de consenso na literatura científica sobre o qual seria mais adequado para avaliar a biomassa algal. Desta forma, em 540 nm ocorre a dispersão de luz emitida pelo espectrofotômetro, em 682 nm há a dispersão e absorção pela clorofila-*a* e em 750 nm é observada a absorção máxima pelas microalgas. As concentrações de clorofila-*a* ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) foram medidas segundo o método proposto por APHA (2012).

A contagem de células das microalgas e cianobactérias foi realizada, a partir da coleta de amostras frescas, em microscópio óptico (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) no aumento de 400x, com uso de câmara *Fuchs-Rosenthal* (KASVI®), seguindo o método proposto por Lund *et al.* (1958). O cálculo do número celular por mL seguiu o método proposto por Honda (2005).

Para as análises taxonômicas da comunidade de algas e cianobactérias, as amostras foram coletadas do interior do FP, filtradas por meio de rede de plâncton com abertura de malha de 20  $\mu\text{m}$  e fixadas com formalina na concentração final de 5%. A comunidade microalgal foi avaliada em microscópio óptico *Olympus BX51* com sistema de captura de imagem acoplado. Para algas verdes, a identificação foi baseada nas obras de Komarék e Fott (1983), Sant'Anna (1984), Bicu-do e Menezes (2006), Hentschke e Torgan (2010). Para cianobactérias, nas obras de Komárek e Azevedo (2000) e Sant'Anna *et al.* (2004).

O FP foi operado em regime de bateladas (três) sob condições ambientais reais, de outubro a novembro de 2020. As análises foram realizadas três vezes na semana – início (dia 0), meio (dia 3) e fim (dia 7) em duas bateladas, e, na terceira batelada, diariamente a fim de traçar o perfil de crescimento microalgal.

## 2.4 Análises estatísticas

Para cada parâmetro avaliado foi aplicado o teste de *Shapiro-Wilk* a fim de estabelecer se os dados são paramétricos. Em todas as comparações realizadas, a probabilidade de  $P < 0,05$  foi considerada para indicar que houve diferença significativa entre os parâmetros. Os dados foram avaliados por meio do *software SigmaPlot* (versão 12.0) e R.

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Crescimento microalgal

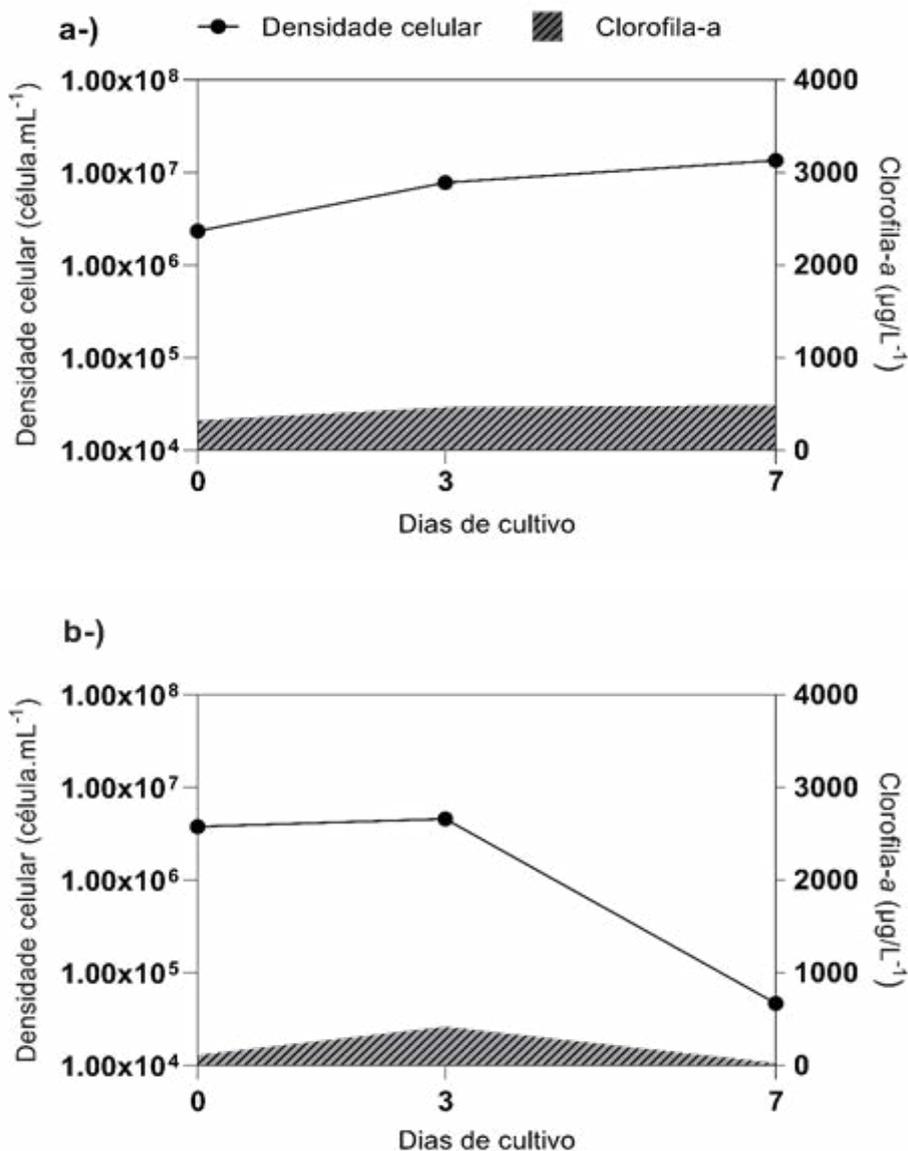
De acordo com o monitoramento realizado, notou-se o crescimento exponencial da comunidade de microalgas e cianobactérias entre o período que engloba os dias 0 e 3 nas bateladas 1 e 2. Paralelamente, a curva de crescimento das microalgas e cianobactérias diferiu entre os dias 0 e 3 na batelada 3, com presença de fase de latência, declínio e, posteriormente, crescimento

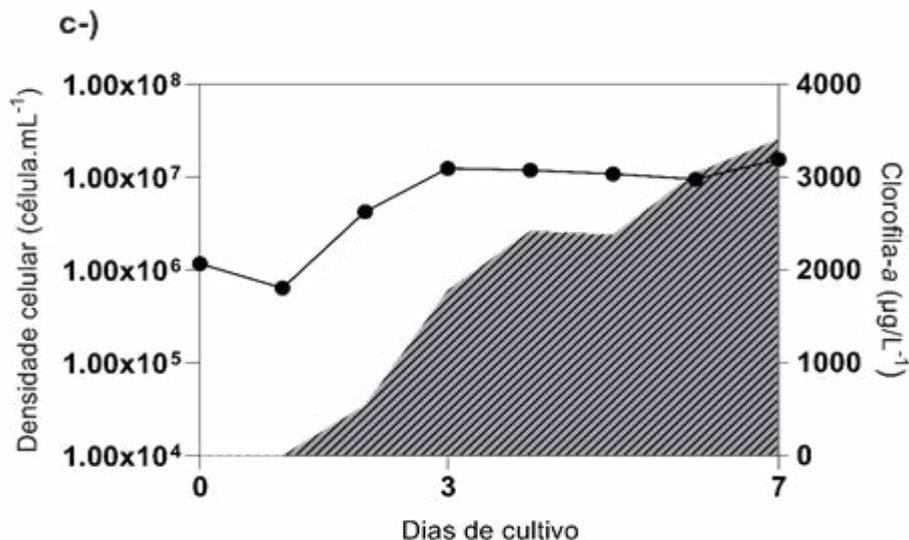
exponencial até o término ao dia 7 (Figura 1). Essa diferença inicial na curva de crescimento da batelada 3 poderia ser correlacionada ao inóculo da semana anterior (5 L), visto que a média final de crescimento microalgal e de clorofila-*a* foram menores na batelada 2.

Ao final do cultivo, as bateladas 1 e 3 atingiram médias de densidade de  $1,35 \times 10^7$  e  $1,56 \times 10^7$  número de células.  $\text{mL}^{-1}$ , respectivamente. Ao passo que, na batelada 2, a menor média de densidade registrada foi de  $4,69 \times 10^4$  células.  $\text{mL}^{-1}$ , evidenciando uma fase de declínio na curva de crescimento celular entre o período dos dias 3 e 7.

A clorofila-*a* atingiu concentrações finais de 488,57; 29,05 e 3406,79  $\mu\text{g.L}^{-1}$  no decorrer das bateladas 1, 2 e 3, respectivamente (Figura 1).

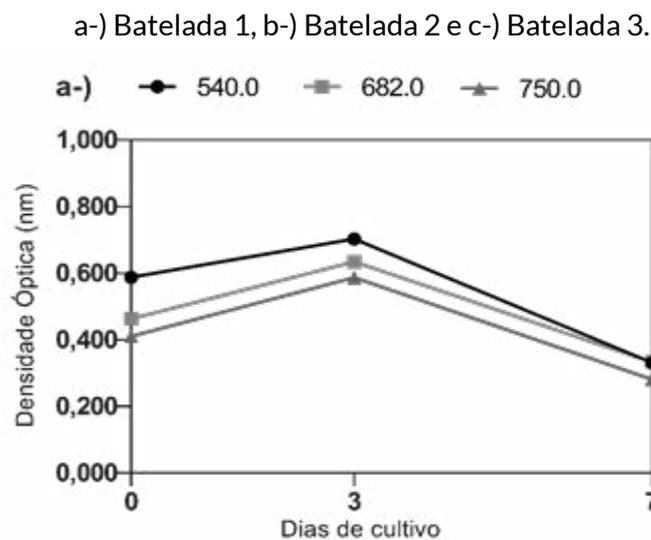
Figura 1: Número de células.  $\text{mL}^{-1}$  e concentração de clorofila-*a* no decorrer da: a-) Batelada 1, b-) Batelada 2 e c-) Batelada 3.

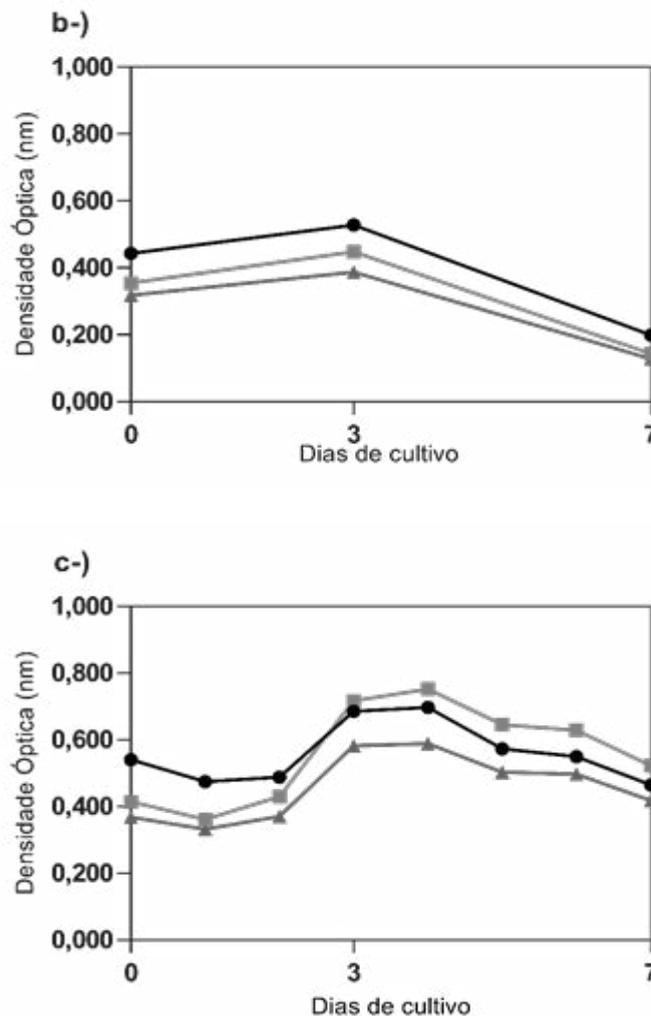




Nas bateladas 1, 2 e 3 os três comprimentos de onda apresentaram padrões similares (Figura 2). A  $DO_{540}$  atingiu valores máximos de 0,70, 0,52 e 0,68 nm; para  $DO_{682}$  0,63, 0,44 e 0,75 nm; e em  $DO_{750}$  0,58, 0,38 e 0,58 nm, respectivamente. Para a relação  $D_{540}/D_{682}$ , as médias foram de 1,13, 0,80 e 1,0, respectivamente, e, de acordo com Kliphuis (2010), indicam células com crescimento adequado nas bateladas 1 e 3.

Figura 2: Densidade óptica nos comprimentos de onda de 540, 682, e 750nm monitoradas no flat panel:





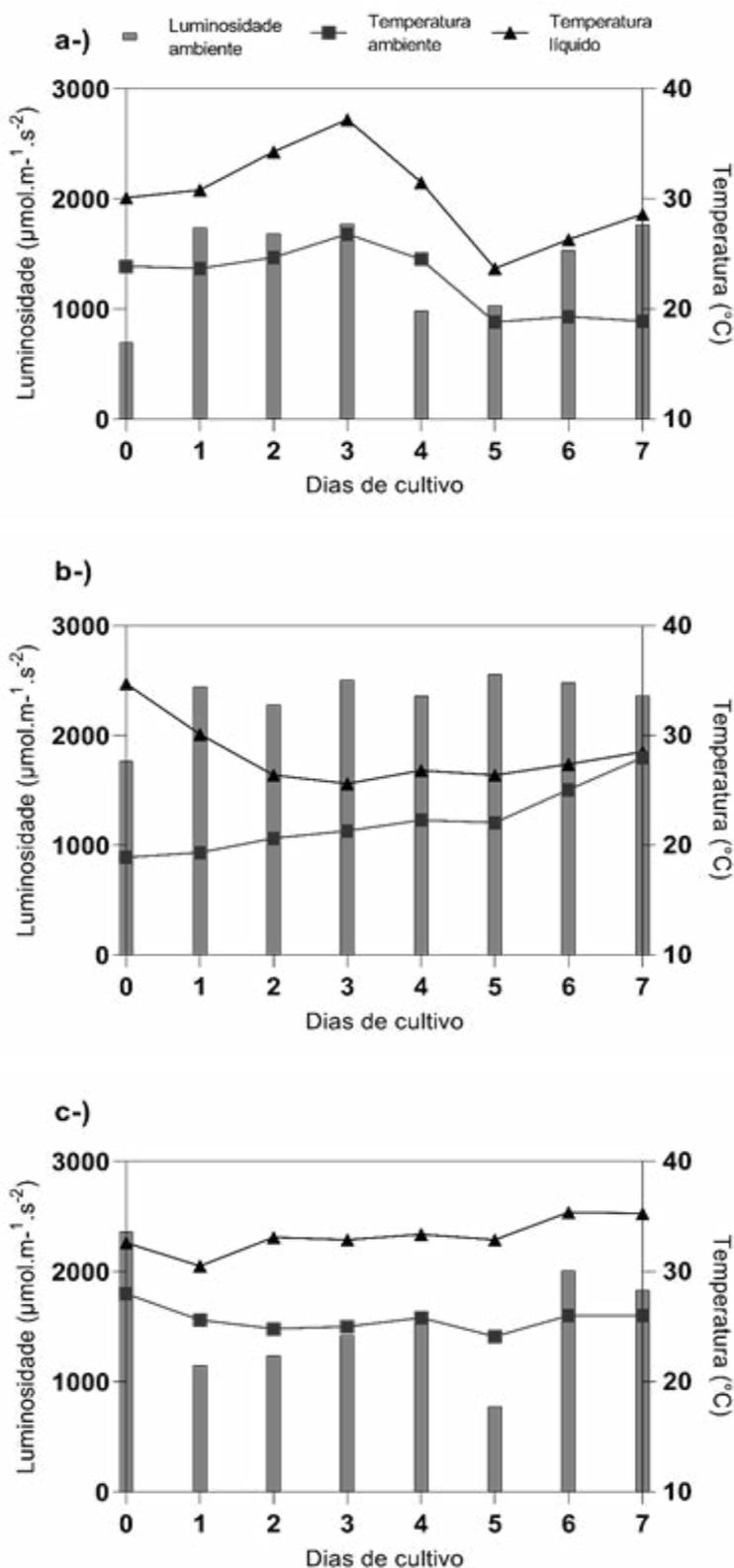
### 3.2 Influência dos parâmetros abióticos sobre o consórcio nativo

As médias de temperatura ambiente mantiveram-se na faixa mesófila, entre 20 e 45 °C, em 22,6 °C, 27,9 °C e 25,6 °C nas bateladas 1, 2 e 3 (Figura 3). Como os fotobiorreatores tipo FP propiciam um caminho de luz estreito e grande relação superfície iluminada por volume S/V (Wang et al., 2012), há o aumento na disponibilidade para cada célula (Miranda et al., 2015). Assim, com o acréscimo nas médias de temperatura ambiente, verificou-se um gradiente entre o ambiente externo e o PBRs, com médias de temperatura do líquido em 30,3 °C, 28,1 °C e 33,2 °C.

Houve o registro de índices de precipitação para as bateladas 1 e 3 com médias em 4,1 e 2,9 mm, respectivamente. Conforme constatado por Hong et al. (2017), a precipitação apresenta um efeito significativo sobre a produção de biomassa algal devido à formação de nuvens.

Para a intensidade luminosa, foram observadas variações entre as bateladas com médias de 1501, 2626 e 1426  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$ , respectivamente (Figura 3). No decorrer do experimento, a maior média foi registrada ao dia 5 da batelada 2, com 2556  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$ .

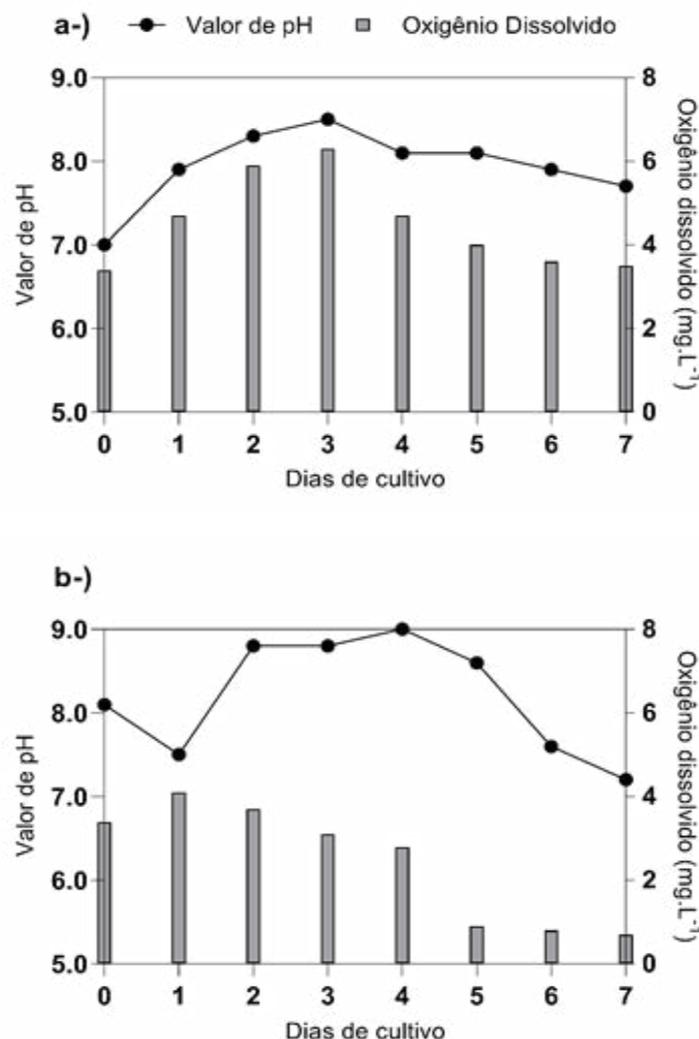
Figura 3: Luminosidade e temperatura do líquido: a-) Batelada 1, b-) Batelada 2 e c-) Batelada 3.

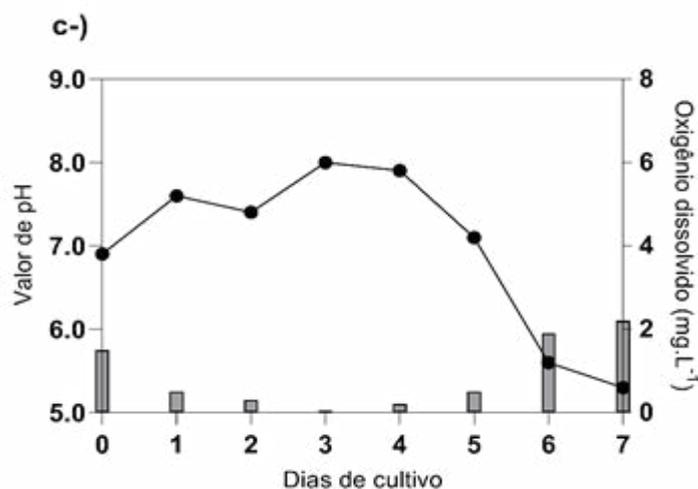


Os valores de pH observados ao longo das bateladas 1 e 2 mantiveram-se próximos (Figura 4), com adaptação do consórcio entre os dias 0 e 3 e tendência de acréscimo no período dos dias 3 a 7, indicando aumento na atividade fotossintética. Ao dia 7, as bateladas 1 e 2 registraram médias no valor de pH de 7,7 e 7,2, respectivamente. Paralelamente, a batelada 3 apresentou variação no valor de pH ao longo do período de cultivo e tendência de declínio entre os dias 4 e 7, atingindo a média final de 5,3. As médias de valor de pH mantiveram-se dentro da faixa descrita na literatura (Kumar *et al.*, 2010), indicando atividade fotossintética elevada.

A média de OD foi de 4,7, 2,3 e 0,8 mg. L<sup>-1</sup> para as bateladas 1, 2 e 3, respectivamente (Figura 4). Esses valores são considerados abaixo da faixa ótima para a atividade microalgal, entre 4 e 5 mg.L<sup>-1</sup>, descrita por Metcalf & Eddy (2015), embora o sistema tenha apresentado elevada produtividade de biomassa algal nas bateladas 1 e 3.

Figura 4: Valor de pH e OD (mg.L<sup>-1</sup>): a) Batelada 1, b) Batelada 2 e c) Batelada 3.





### 3.3 Lista florística de microalgas e cianobactérias nativas do esgoto sanitário

O resultado da análise qualitativa de 22 lâminas demonstrou a presença de 19 táxons (Tabela 1), divididos em três classes (*Bacillariophyceae*, *Chlorophyceae* e *Cyanophyceae*). A classe com mais gêneros foi *Chlorophyceae* com 57,9% dos táxons, seguida de *Cyanophyceae* abrangendo 36,8% e *Bacillariophyceae* englobando 5,3%. Um táxon foi identificado ao nível de espécie (*Chlorella vulgaris* Beverinck (Beijerinck)).

Ao início da batelada 1, foram identificadas espécies de microalgas esféricas como *Chlorella* e *Chlamydomonas*, e elípticas, como *Desmodesmus*. As cianobactérias identificadas em maior densidade foram as coloniais, com os gêneros *Aphanocapsa* e *Rhabdoderma*. Em menor abundância, foram observadas, ao início do experimento, algas verdes do gênero *Ankistrodesmus* e diatomáceas do gênero *Navicula* aos dias 0 e 7. Ao final do período de cultivo, os gêneros mais abundantes foram *Chlorella* e *Desmodesmus*.

As bateladas 2 e 3 tiveram distribuições mais uniformes no decorrer do período de cultivo, com riqueza dos gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Desmodesmus* e, em menor abundância, *Chlamydomonas*, *Monophiridium* e *Kirchneriella*. Ao dia 7 da batelada 2, notou-se a queda na abundância de microalgas e cianobactérias, com dominância de *Chlorella vulgaris* Beverinck (Beijerinck).

A policultura, no decorrer da batelada 3, apresentou a maior riqueza de gêneros, com 17 táxons identificados no período. Além disso, houve uma biodiversidade mais elevada de *Cyanophyceae* em comparação às bateladas 1 e 2. Ao dia 7, a dominância no cultivo foi de *Chlorella* e *Desmodesmus* (Figura 5).

Figura 5: Gêneros predominantes observados no microscópio óptico no aumento de 1000x:  
a-) *Chlorella* e b-) *Desmodesmus*.

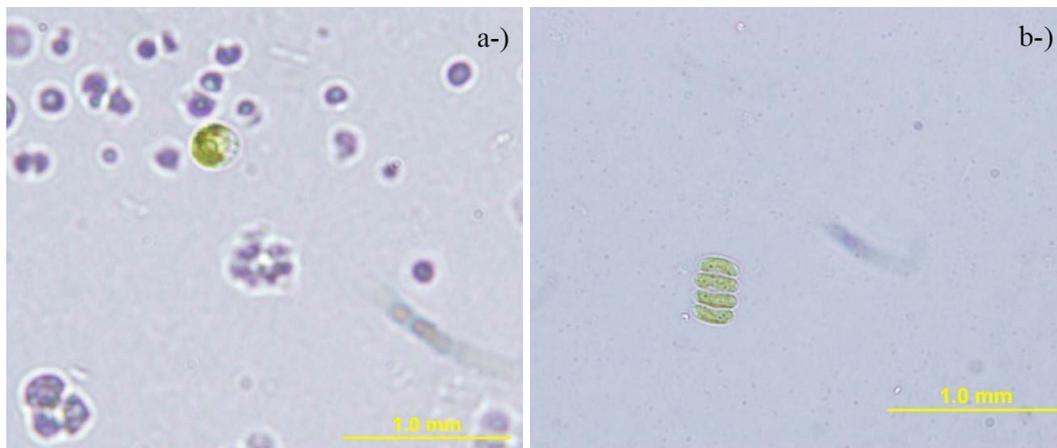


Tabela 1: Táxons identificados no período de amostragem (bateladas 1, 2 e 3)

BATELADA 1	BATELADA 2	BATELADA 3
<b>Bacillariophyceae</b>	<b>Bacillariophyceae</b>	<b>Chlorophyceae</b>
<i>Navicula</i> sp.	<i>Navicula</i> sp.	<i>Chlamydomonas</i>
<b>Chlorophyceae</b>	<b>Chlorophyceae</b>	<i>Chlorella</i> sp1.
<i>Ankistrodesmus</i>	<i>Chlamydomonas</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> Beverinck (Beijerinck).
<i>Chlamydomonas</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> Beverinck (Beijerinck).	<i>Desmodesmus</i> sp1.
<i>Chlorella vulgaris</i> Beverinck (Beijerinck).	<i>Desmodesmus</i> sp1.	<i>Desmodesmus</i> sp2.
<i>Desmodesmus</i> sp1.	<i>Desmodesmus</i> sp2.	<i>Dictyosphaerium</i>
<i>Scenedesmus</i> sp1.	<i>Kirchneriella</i>	<i>Kirchneriella</i>
<i>Scenedesmus</i> sp2.	<i>Monoraphidium</i>	<i>Monoraphidium</i>
<b>Cyanophyceae</b>	<i>Scenedesmus</i> sp1.	<i>Scenedesmus</i> sp1.
<i>Aphanocapsa</i> sp1.	<i>Scenedesmus</i> sp2.	<i>Scenedesmus</i> sp2.
<i>Aphanocapsa</i> sp2.	<b>Cyanophyceae</b>	<b>Cyanophyceae</b>
<i>Cyanodictyon</i>	<i>Aphanocapsa</i> sp1.	<i>Aphanocapsa</i> sp1.
<i>Rhabdoderma</i>	<i>Aphanocapsa</i> sp2.	<i>Aphanocapsa</i> sp2.
	<i>Aphanocapsa</i> sp3.	<i>Aphanocapsa</i> sp3.
	<i>Cyanodictyon</i>	<i>Cyanodictyon</i>
	<i>Planktolyngbya</i>	<i>Planktolyngbya</i>
	<i>Rhabdoderma</i>	<i>Rhabdoderma</i>
		<i>Synechococcus</i>

#### 4. DISCUSSÃO

Ao longo do experimento, o PBR esteve suscetível a todos os tipos de fatores bióticos e abióticos não-controlados em ambiente externo, acarretando variações na composição taxonômica e biomassa algal. Com relação aos fatores abióticos, a temperatura ambiente e do líquido manteve-se na faixa ótima registrada para a maioria das espécies de microalgas (Singh & Singh, 2015), entre 20 °C e 30°C. Apesar da batelada 1 ter registrado temperatura do líquido mais elevada entre 23°C-37°C, as espécies do gênero *Chlorella*, com dominância ao longo deste estudo, apresentam taxa satisfatória de crescimento em temperatura na faixa de 20°C a 30 °C, não sendo observado fenômeno de fotorrespiração. Zlotnik & Dubinsky (1989) e James et al. (1989) observaram crescimento na faixa de temperatura de 30 °C a 35 °C – com taxa máxima obtida entre 25°C e 30 °C.

Ao longo deste estudo, as médias de intensidade luminosa nas bateladas 1 e 3 apresentaram uma correlação moderada positiva ( $r= 0,84$  e  $0,59$ ) com significância sobre o crescimento microalgal, determinada pelo teste unidirecional ANOVA ( $P = 0,012$  e  $P = <0,001$ ). Diversos estudos associaram a rápida elevação nas taxas de crescimento microalgal e produtividade sob altas intensidades luminosas para espécies como *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus sp.* (Khoeyi et al., 2010; Seyfabadi et al., 2011; Fontoura et al., 2017; Metsoviti et al., 2019). Ao exceder os limites máximos de luminosidade, a taxa de crescimento decai pelo fenômeno de fotoinibição. Segundo Chisti (2008), as microalgas são fotoinibidas quando a luminosidade atinge valores ligeiramente maiores a sua taxa máxima de absorção.

Como as culturas de microalgas ao ar livre são expostas a mudanças diárias nas condições ambientais, especialmente irradiância e temperatura do líquido, valores limitantes e possivelmente inibidores para a fotossíntese podem ser registrados (Ogbonna & Tanaka, 1996; Carvalho et al., 2010). Apesar da média de luminosidade em  $2343 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$ , a batelada 2 apresentou a menor densidade celular e concentração de clorofila-*a* ao longo deste estudo. Assim, o aumento das taxas de intensidade luminosa entre os dias 5 e 7 possivelmente atingiu o platô dos espécimes presentes no consórcio nativo, acarretando o fenômeno de fotoinibição.

Conforme discorrido por Carvalho et al. (2010), as altas incidências de radiação afetam o fotossistema II, que pode ter sido danificado rapidamente, de modo que a bioprodutividade diminui à medida que o fluxo fotônico for aumentado. Entretanto, não há um consenso na literatura sobre qual a faixa de tolerância. Observações empíricas indicam valores entre 200-400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$ , ao passo que outros estudos atestam o limite de fluxo de até  $2.000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-2}$  de intensidade solar (Carvalho et al. 2010; Gordon & Polle, 2007; Hu et al., 1998), evidenciando a necessidade de monitorar continuamente esse parâmetro abiótico.

O declínio na curva de crescimento microalgal é demonstrado também pelas análises de clorofila-*a*., densidade óptica, média de 0,80 nm na relação  $\text{DO}_{540}/\text{DO}_{682}$ , que indica um cresci-

mento inadequado, e por dados abióticos, como OD, que apresentou decréscimo significativo ( $P = < 0,006$ ). Ao final da batelada 2, observou-se a dominância de microalgas do gênero *Chlorella* no efluente, com diminuição na riqueza de gêneros.

Apesar do declínio de outros parâmetros bióticos e abióticos, o valor de pH se manteve neutro em 7,2 no sétimo dia da batelada 2. Uma hipótese para tal é o consumo de alcalinidade como fonte de carbono inorgânico pelas microalgas, visto que em decorrência do uso dos bicarbonatos, ocorre a liberação de  $\text{OH}^-$  para o líquido, ocasionando um aumento do valor de pH, além da redução da alcalinidade do meio (Markou *et al.*, 2014). Além disso, avaliando o fotoperíodo, o valor de pH apresentou médias mais elevadas no período sob luminosidade solar (10,8) em comparação aos valores noturnos (9,9). Essas perdas se devem possivelmente ao fotoperíodo claro que se estabeleceu em 12:05, 11:54 e 12:37 para as bateladas 1, 2 e 3, respectivamente. Ao longo dos períodos com luminosidade, devido ao metabolismo microalgal, há a incorporação do  $\text{CO}_2$  ao Ciclo de Calvin, diminuindo a acidez do meio. Paralelamente, durante o  $\text{CO}_2$  fixado é armazenado no vacúolo na forma de malato, por esse motivo a acidez celular aumenta progressivamente (KERBAURY, 2004).

Ademais, observou-se, ao longo de todo o experimento, a presença de organismos detritívoros, como rotíferos (*Cephadodella*) e protozoários de nado livre (*Paramecium*) sob microscópio óptico, com maior abundância no decorrer da batelada 2. Segundo Esteves (1998), a presença de holoplânctônicos exerce uma influência relevante sobre a biomassa, produção e composição da comunidade de microalgas. Espindola *et al.* (2000) associa as baixas concentrações de oxigênio dissolvido e clorofila-*a* ao estabelecimento e sucesso de espécies com ciclos reprodutivos mais rápidos, como *Cephadodella*. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que o aumento do fluxo fotônico, com consequente diminuição da população de microalgas e cianobactérias, concentração de clorofila-*a* e OD possibilitou elevada abundância de holoplânctônicos, identificados naturalmente no esgoto sanitário.

A partir das análises qualitativas, o gênero de microalga *Navicula* foi identificada nas bateladas 1 e 2. Sabe-se que as diatomáceas apresentam grande potencial na biorremediação de águas residuárias, sendo altamente sensíveis a mudanças nas condições físico-químicas do ecossistema, o que as tornam bioindicadores ecológicos ideais (Marella *et al.*, 2020). Devido ao tamanho celular, da ordem de microm, e ao seu teor de nutrientes, as *Bacillariophyceae* são facilmente absorvidas e digeridas pelo zooplâncton (Ambler & Frost, 1974), o que justificaria a ausência de *Navicula* ao dia 7 da batelada 2 e no decorrer da batelada 3.

No presente estudo, a classe *Chlorophyceae* apresentou maior biodiversidade, com abundância de algas verdes cocóides e elipsóides, seguida de *Cyanobacteria*, com células filamentosas e coloniais. Os gêneros identificados no FP foram condizentes com outros estudos realizados

na região Sudeste do Brasil (Gouveia et al., 2016; Pereira et al., 2018), com predominância de *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Desmodesmus*, *Chlamydomonas* e cianobactérias coloniais, como *Aphanocapsa*. Menos frequentemente foram identificadas cianobactérias filamentosas, como *Oscillatoria*, e alguns gêneros da classe *Chlorophyceae*, como *Kirchneriella* e *Monoraphidium*. Observou-se que a riqueza de gêneros aumentou conforme o tempo de operação do fotobiorreator, como constatado pela contagem de células por mililitro e análises microscópicas qualitativas.

## 5. CONCLUSÃO

Foram observados os efeitos de fatores bióticos e abióticos ante variações ambientais em um fotobiorreator tipo *flat panel* utilizado para o pós-tratamento de esgoto sanitário de alta carga. Os maiores índices de luminosidade registrados ao longo deste estudo propiciaram ao cultivo menor densidade celular, visto que o fotossistema II apresenta um limite ecológico de tolerância para a intensidade luminosa e, ao atingir esse platô, notou-se a queda no crescimento microalgal e produtividade de biomassa.

Ao longo das bateladas, o fotobiorreator *flat panel* apresentou uma flórua de algas e cianobactérias diversificada, com dominância de espécimes das classes *Chlorophyceae* e *Cyanobacteria*. Observou-se também que a riqueza de gêneros aumentou no cultivo conforme o tempo de operação do fotobiorreator.

O monitoramento do cultivo é de suma importância para avaliar e identificar potenciais limitantes ao crescimento microalgal, como observado, por exemplo, com as altas intensidades luminosas e a presença de detritívoros no cultivo. Desta forma, compreender a influência dos fatores bióticos e abióticos é necessário para que se possa melhorar os sistemas de cultivo de microalgas em larga escala.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPESP) (Processo 2018/18367-1) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro como auxílio a projeto de pesquisa (Processos 309064/2018-0 e 4279362018-7); ao CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior (CAPES) – Código de Financiamento 001. Ao Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), que nos permitiu conduzir este estudo. À Faculdade de Engenharia de Bauru (FEB/UNESP) e ao Instituto Federal do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS), por permitir a licença de qualificação ao pesquisador Hugo Renan Bolzani.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. V. C.; PONTES, T. G.; SOUSA, J. T.; LEITE, V. D.; LOPES, W. S. *In*: Dominância de *Chlorella* sp. em lagoas de polimento no pós-tratamento de efluente anaeróbio. *Anais do Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental e Sustentabilidade*, João Pessoa: Congestas, 2019. p. 116-123.
- ALCÁNTARA, C.; FERNÁNDEZ, C.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; MUNÓZ, R. Mixotrophic metabolism of *Chlorella sorokiniana* and algal-bacterial consortia under extended dark-light periods and nutrient starvation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 99, n. 5, p. 2393-2404, 2015.
- AMBLER, J. W.; FROST, B. W. The feeding behavior of a predatory planktonic copepod, *Torlanus discaudatus* 1. *Limnol. Oceanogr.*, v. 19, p. 446-451, 1974.
- APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. WEF, v. 22, 2012.
- ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. *Algal Research*, v. 27, p. 190-197, 2017.
- BATSTONE, D. J.; HÜLSEN, T.; MEHTA, C. M.; KELLER, J. Platforms for energy and nutrient recovery from domestic wastewater: a review. *Chemosphere*, v. 140, p. 2-11, 2015.
- CARVALHO, A. P.; SILVA, S. O.; BAPTISTA, J. M.; MALCATA, F. X. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biphotonic aspects. *Springer: Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 89, p. 1275-1288, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, v. 26, n. 3, p. 126-131, 2008.
- DE LA NÖEU, J.; DE PAWN, N. The potential of microalgal biotechnology. A review of production and uses of microalgae. *Biotechnol. Adv.*, v. 6, p. 725-770, 1988.
- DOROTHEE, S.; ANDREAS, S.; MAX, M. Comparative analysis of sanitation systems for resource recovery: influence of configurations and single technology components. *Water Research*, 116281, 2020.
- ESTEVES, F. A. *Fundamentos de Limnologia*. Rio de Janeiro: Ed. Interciência, 1998. 575p
- FONTOURA, J. T.; ROLIM, G. S.; FARENZENA, M.; GUTTERRES, M. Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 111, p. 355-362, 2017.
- GORDON, J. M.; POLLE, J. E. W. Ultrahigh bioproductivity from algae. *Appl Microbiol Biotechnol.*, v. 76, p. 969-975, 2007.
- GOUVEIA, L.; GRAÇA, S.; SOUSA, C.; AMBROSANO, L.; RIBEIRO, B.; BOTREL, E. P.; CASTRO NETO, P.; FERREIRA, A. F.; SILVA, C. M. Microalgae biomass production using wastewater: treatment and costs. *Algal Research*, v. 16, p. 167-176, 2016.
- HONDA, R.Y. Estudos taxonômicos e de desenvolvimento in vitro de *Microcystis* spp (Cyanobacteria) isoladas de corpos d'água do estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado Instituto de Botânica, São Paulo, 2005.

HONG, J. W.; KIM, O. H.; JO, S. W.; DO, J. M.; YOON, H. S. Microalgal biomass productivity and dominant species transition in a Korean mass cultivation system. *Algal Research*, v. 26, p. 365-370, 2017.

HU, Q.; ZARMI, Y.; RICHMOND, A. Combined effects of light intensity, light path and culture density on output rate of *Spirulina platensis* (cyanobacteria). *Eur J Phycol*, v. 33, p. 165-171, 1998.

JAMES, C. M.; AL-HINTY, S.; SALMAN, A. E. Growth and  $\Omega$ 3 fatty acid and amino acid composition of microalgae under different temperature regimes. *Aquaculture*, v. 77, n. 4, p. 337-351, 1989.

KERBAUY, G. B. *Fisiologia vegetal*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004. 398 p.

KHOEYI, Z.A.; SEYFABADI, J.; RAMEZANPOUR, Z. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquac. Int.*, v. 20, n. 1, p. 41-49, 2010.

KLIPHUIS, A. M. J.; WINTER, L.; VEJRAZKA, C.; MARTENS, D. E.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H. Photosynthetic efficiency of *Chlorella sorokiniana* in a turbulently mixed short light-path photobioreactor. *Biotechnology progress*, v. 26, n. 3, p. 687-696, 2010.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; VAN LANGENHOVE, H. Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends In Biotechnology*, v. 28, n. 7, p. 371-380, 2010.

LAKANIEMI, A.M; HULLAT, C. J.; WAKEMAN, K. D.; THOMAS, D. N.; PUHAKKA, J. A. Eukaryotic and prokaryotic microbial communities during microalgal biomass production. *Biore-source Technology*, v. 124, p. 387-393, 2012.

MAKUT, B. B.; DAS, D.; GOSWAMI, G. Production of microbial biomass feedstock via co-cultivation of microalgae-bacteria consortium coupled with effective wastewater treatment: A sustainable approach. *Algal Research*, v. 37, p. 228-239, 2019.

MARELLA, T. K.; LÓPEZ-PACHECO, I Y.; PARRA-SALVÍVAR, R.; DIXIT, S.; TIWARI, A. Wealth from waste: Diatoms as tools for phytoremediation of wastewater and for obtaining value from the biomass. *Science of the Total Environment*, v. 724, 137960, 2020.

MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Ammonia inhibition on *Arthrospira platensis* in relation to the initial biomass density and pH. *Bioresource technology*, v. 166, p. 259-265, 2014.

METCALF, L; EDDY, H. P. *Tratamento de efluentes e recuperação de recursos*. 5. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2016. 2008 p.

METSOVITI, M. N.; PAPAPOLYMEROU, G.; KARAPANAGIOTIDIS, I. T.; KATSOULAS, N. Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris*. *Plants*, v. 9, n. 31, 2019.

MIRANDA, C. T.; PINTO, R. F.; LIMA, D. V. N.; VIEGAS, C. V.; COSTA, S. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Microalgae Lipid and Biodiesel Production: A Brazilian Challenge. *Scientific Research Publishing Inc.*, v. 6, p. 2522-2533, 2015.

OGBONNA, J. C.; TANAKA, H. Night biomass loss and changes in biochemical composition of cells during light/dark cyclic culture of *Chlorella pyrenoidosa*. *J. Ferment. Bioengng*, v. 82, p. 558-564, 1996.

PEREIRA, M. V.; DASSOLER, A. F.; ANTUNES, P. W.; GONÇALVES, R. F.; CASSINI, S. T. Indigenous microalgae biomass cultivation in continuous reactor with anaerobic effluent: effect of dilution rate on productivity nutrient removal and bioindicators. *Environmental Technology*, v. 41, n. 14, p. 1780-1792, 2018

RODOLFI, L.; CHINI-ZITTELLI, G.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M. R. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 102, p. 100-112, 2009.

RUAS, G.; SEREJO, M. L.; PAULO, P. L.; BONEZ, M. A. Evaluation of domestic wastewater treatment using microalgal-bacterial processes: effect of CO<sub>2</sub> addition on pathogen removal. *Journal of Applied Phycology*, v. 30, n. 2, p. 921-929, 2017.

SERRA-MAIA, R.; BERNARD, O.; GONÇALVES, A.; BENSALÉM, S.; LOPES, F. Influence of temperature on *Chlorella vulgaris* growth and mortality rates in a photobioreactor. *Algal Research*, v. 18, p. 352-359, 2016.

SEYFABADI, J.; RAMEZANPOUR, Z.; KHOEYI, Z.A. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *J. Appl. Phycol.*, v. 23, p. 721-726, 2011.

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.

SNIS. Esgotamento Sanitário (2019). Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, Ministério do Desenvolvimento Regional (2019). Disponível em: < <http://www.snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>>. Acesso em: 01 ago. 2021.

SUBASHCHANDRABOSE, S. R.; RAMAKRISHNAN, B.; MALLAVARAPU, M.; VENKATESWARLU, K.; NAIDU, R. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnology advances*, v. 29, p. 696-907, 2011.

THOMAS, P. K.; DUNN, G. P.; GOOD, A. R.; CALLAHAN, M. P.; COATS, E. R.; NEWBY, D. T.; FERIS, K. P. A natural algal polyculture outperforms an assembled polyculture in wastewater-based open pond biofuel production. *Algal Research*, v. 40, 2019.

WANG, B.; LAN, C. Q.; HORSMAN, M. Closed photobioreactors for production of microalgae biomasses. *Biotechnology Advances*, v. 30, p. 904-912, 2012.

ZHENG, M.; DAI, J.; JI, X.; LI, D.; HE, Y.; WANG, M.; HUANG, J.; CHEN, B. An integrated semi-continuous culture to treat original swine wastewater and fix carbon dioxide by an indigenous *Chlorella vulgaris* MBFJNU-1 in an outdoor photobioreactor. *Bioresource Technology*, v. 340, 125703, 2021

ZLOTNIK, I.; DUBINSKY, Z. The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, v. 34, p. 831-839, 1989.