



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE TECNOLOGIA - CTEC
ENGENHARIA QUÍMICA



**USO DE MICROALGAS NA REMOÇÃO DE NITRATO EM ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS CONTAMINADAS**

Marcio Luciano Ferreira de Sá Filho

MACEIÓ
2022

Marcio Luciano Ferreira de Sá Filho

**USO DE MICROALGAS NA REMOÇÃO DE NITRATO EM ÁGUAS
SUBTERRÂNEAS CONTAMINADAS**

Dissertação apresentada ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Carlos Eduardo de Farias Silva, PhD

MACEIÓ

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S111u Sá Filho, Marcio Luciano Ferreira de.
Uso de microalgas na remoção de nitrato em águas subterrâneas contaminadas /
Marcio Luciano Ferreira de Sá Filho. – 2022.
69 f. : il. color.

Orientador: Carlos Eduardo de Farias Silva.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas.
Centro de Tecnologia. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 60-69.

1. Desnitrificação. 2. Nitrato - Contaminação. 3. Tetrademus sp. 4. Remoção de
contaminantes. I. Título.

CDU: 661.15'11'14'16

Marcio Luciano Ferreira de Sá Filho

**USO DE MICROALGAS NA REMOÇÃO DE NITRATO EM
ÁGUAS SUBTERRÂNEAS CONTAMINADAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Alagoas,
como requisito para a obtenção do
Título de Mestre em Engenharia
Química.

Aprovada em: Maceió, 24 de janeiro de 2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva (Orientador – PPGEQ/UFAL)



Prof^a. Dr^a. Renata Maria Rosas Garcia Almeida (PPGEQ/UFAL)



Prof^a. Dr^a. Daniele Vital Vich (PPGRHS/UFAL)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Veriana e Márcio, e irmãos, Márcia e Yuri pelo amor e dedicação durante todos os anos de minha vida.

À Júlia, minha companheira que me apoiou, e enfrentou ao meu lado toda a jornada.

Ao Professor Dr. Carlos Eduardo de Farias Silva, por sua paciência e zelo na orientação acadêmica e profissional.

Aos meus companheiros de laboratório, Andreiza, Flávio, Francine, Josy e Thays, pelas conversas, risadas, recomeços e incentivos.

A todos que fazem parte do LTBA e que contribuíram direto e indiretamente nesta etapa fundamental de minha vida.

RESUMO

O nitrato é o contaminante mais frequente em aquíferos por todo o mundo. A atividade antrópica é o fator que mais contribui para a contaminação das águas pelo composto. Entre as fontes de contaminação, o lançamento inadequado de águas residuárias domésticas é um dos mais relevantes. No Brasil, há ausência de redes coletoras de esgoto e a ampla utilização do conjunto fossa séptica e sumidouro como uma alternativa é um fator agravante quanto a contaminação da água subterrânea. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a potencialidade da utilização da microalga *Tetradismus* sp. na remediação de água subterrânea contaminada por nitrato, nitrito e amônia, considerando a influência de fatores nutricionais e ambientais do processo. Os experimentos foram configurados em batelada e em semi-contínuo, com aeração superficial e forçada (0,5vvm com ar atmosférico), intensidades luminosas entre 50 e 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, faixa de pH 8,0 - 8,5, concentração inicial de nitrato entre 50 - 400 mg/L, nitrito entre 0 - 16,8 mg/L, amônia entre 0,0 - 9,0 mg/L, fosfato total entre 0 - 60 mg/L com efluente sintético e real, e tempo de cultivo entre 3 e 15 dias. Utilizando aeração superficial como fonte de inserção de CO_2 no sistema, as remoções de nitrato não foram satisfatórias mostrando a necessidade de se utilizar aeração forçada no sistema. Nos experimentos em batelada, seja com o meio de cultura BG-11 modificado ou com o efluente real, quando utilizaram aeração forçada e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, as remoções do teor de nitrato foram de até 100% e de fosfato total de até 94%, estando abaixo do limite máximo estabelecido por legislação brasileira (45 mg/L de nitrato e 3,2 mg/L de fosfato), quando conduzidos sob aeração forçada e intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (utilizada também no processo semicontínuo). Para o experimento realizado de modo semi-contínuo testou-se taxas de reposição volumétrica de 20, 40, 60 e 80% em intervalos de 3 dias e obteve-se, até o terceiro ciclo, uma % de remoção dos contaminantes satisfatória para taxas de 40 e 60%. No entanto, em uma taxa de reposição volumétrica de 20% não foi alcançada a estabilidade para a produção de biomassa no biorreator, enquanto utilizando 80%, a remoção de contaminantes não foi eficiente. Assim, os resultados mostram a potencialidade da *Tetradismus obliquus* LCE-01 para remediação e adequação da água subterrânea contaminada para os padrões de potabilidade vigentes, principalmente em níveis de nitrato.

Palavras-chave: Desnitrificação Biológica, Contaminação por Nitrato, *Tetradismus* sp., Remoção de Nutrientes.

ABSTRACT

Nitrate is the most frequent contaminant in aquifers around the world. Anthropogenic activity is the factor that most contributes to the contamination of water by the compost. Among the sources of contamination, the inappropriate discharge of domestic wastewater is one of the most relevant. In Brazil, sewage collection networks are absent and the widespread use of the septic tank and sinks as an alternative is an aggravating factor in terms of groundwater contamination. In this context, the present research aimed to evaluate the potential of using the microalgae *Tetradesmus* sp. in the remediation of groundwater contaminated by nitrate, nitrite, and ammonia, considering the influence of nutritional and environmental factors in the process. The experiments were set up in batch and semi-continuous, with natural and forced aeration (0.5vvm atmospheric air), light intensities between 50 and 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH range 8.0 - 8.5, initial concentration of nitrate between 50 - 400 mg/L, nitrite between 0 - 16.8 mg/L, ammonia between 0.0 - 9.0 mg/L, total phosphate between 0 - 60 mg/L with synthetic effluent and real, and cultivation time between 3 and 15 days. The natural aeration, to provide CO₂ to the system, did not get a satisfactory nitrate removal, showing the need to use forced aeration in the system. In the batch experiments, either with the modified BG-11 culture medium or with the real effluent, when forced aeration and 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of light intensity were used, the removal of nitrate content was up to 100%, and total phosphate of up to 94%, being below the maximum limit established by Brazilian legislation (45 mg/L of nitrate and 3.2 mg/L of phosphate), when conducted under forced aeration and light intensity of 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (also used in the semi-continuous process). For the experiment carried out in semi-continuous, volumetric replacement rates of 20, 40, 60, and 80% were tested at 3-day intervals and, until the third cycle, a satisfactory removal of contaminants was obtained for rates of 40 and 60%. However, at a volumetric replacement rate of 20%, stability was not achieved for the production of biomass in the bioreactor, while using 80%, the removal of contaminants was not efficient. Thus, the results show the potential of *Tetradesmus obliquus* LCE-01 for remediation and adequacy of contaminated groundwater to current potability standards, mainly in terms of nitrate levels.

Keywords: Biological denitrification, Nitrate-contaminated water, *Tetradesmus* sp., Nutrient removal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Degradação da matéria orgânica, nitrificação parcial e desnitrificação.	14
Figura 2 - Ciclo do nitrogênio.	20
Figura 3 - Rotas de interconversão entre as diferentes formas nitrogenadas.	21
Figura 4 - Esquema de tratamento por troca iônica padrão.	23
Figura 5 - Esquema padrão de tratamento por osmose reversa.	24
Figura 6 - Esquema padrão de tratamento por eletrodialise.	25
Figura 7 - Esquema padrão do tratamento por desnitrificação biológica.	26
Figura 8 - Curva de crescimento da <i>Scenedesmus</i> sp. LX1 (A) e quantidade de lipídio por biomassa para diferentes temperaturas.	27
Figura 9 - Tipos de fotobiorreatores, (A) sistema aberto - tanque circular, (B) sistema fechado - fotobiorreator tubular horizontal, (C) sistema fechado – fotobiorreator tubular horizontal. .	31
Figura 10 - Processo descontínuo, semi-contínuo e contínuo.	32
Figura 11 - Rotas de assimilação de nitrogênio típicas de uma célula microalgal.	33
Figura 12 - Imagem de microscópio óptico da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. LCE-01 com aumento de 1000x.	36
Figura 13 – Configuração 1 do sistema de tratamento utilizado.	39
Figura 14 – Configuração 2 do sistema de tratamento utilizado.	39
Figura 15 - Curva padrão nitrato	43
Figura 16 - Curva padrão nitrito.	44
Figura 17 - Curva padrão amônia.	44
Figura 18 - Curva padrão de fosfato total.	45
Figura 19 - Crescimento da <i>Tetrademus</i> sp. sob a influência de diferentes luminosidades. ..	47
Figura 20 - Crescimento microalgal (A) e remoção de nitrato (B) para diferentes concentrações de nitrato.	48
Figura 21 - Comparação de desempenho dos reatores com e sem aeração. A) Crescimento celular, B) Concentração de fosfato e C) Concentração de nitrato com o tempo de tratamento.	52
Figura 22 – Análise dos experimentos realizados com efluente subterrâneo real. A) Crescimento celular, B) Concentração de nitrato, C) nitrito, D) amônia e E) fosfato total.	53
Figura 23 - Crescimento da biomassa no sistema semi-contínuo.	55
Figura 24 – Remoção de A) nitrato e B) fosfato no sistema semicontínuo.	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da Água em Relação ao seu IQA.	15
Tabela 2 - Padrões de Qualidade Exigidos pela OMS e MS.	16
Tabela 3 – Publicações de sistemas em batelada para remoção de nutrientes com microalgas.	35
Tabela 4 - Caracterização da água sintética por nitrato.....	37
Tabela 5 - Caracterização da água dos poços A e B, LTBA.	38
Tabela 6 – Relação área/volume na remoção de nutrientes e crescimento da biomassa de <i>Tetrademus obliquus</i> em sistemas em batelada com aeração superficial.	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. GERAL.....	12
2.2. ESPECÍFICOS	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1. ÁGUA E AS ATIVIDADES HUMANAS	13
3.2. FORMAS DE NITROGÊNIO PRESENTES NA NATUREZA.....	13
3.3. ÁGUA PARA ABASTECIMENTO.....	14
3.3.1. Características e parâmetros de potabilidade.....	14
3.4. NITRATO E POLUIÇÃO DAS ÁGUAS.....	17
3.5. NITRATO NA ÁGUA.....	19
3.5.1. Ciclo do nitrogênio e as espécies químicas	19
3.5.2. Perigos à saúde humana.....	21
3.5.3. Formas de remoção de nitrato em água	22
3.6. MICROALGAS	26
3.6.1. Requerimentos ambientais e nutricionais	26
3.6.2. Formas de cultivo	30
3.6.3. Bioquímica da assimilação de nitrato pelas microalgas	33
3.6.4. Microalgas e a capacidade de remoção de nutrientes.....	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1. A ESPÉCIE MICROALGAL	36
4.2. MEIO DE CULTIVO UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS.....	37
4.2.1. Experimentos Preliminares – Efluente Sintético	37
4.2.2. Efluente Real (Água subterrânea contaminada por nitrato)	37
4.3. SISTEMA DE CULTIVO.....	38

4.4.	EXPERIMENTOS REALIZADOS	40
4.4.1.	Etapa 1 – (Configuração 1) – Avaliação da intensidade luminosa em efluente sintético e aeração superficial.....	40
4.4.2.	Etapa 2 – (Configuração 1) – Diferentes concentrações de Nitrato em efluente sintético e aeração superficial.....	40
4.4.3.	Etapa 3 – (Configuração 2) – Com aeração forçada e efluente sintético.....	41
4.4.4.	Etapa 4 – (Configuração 2) – Efluente Real sob aeração forçada	41
4.4.5.	Etapa 5 – (Configuração 2) – Efluente em processo semi-contínuo e aeração forçada	41
4.5.	MÉTODOS DE ANÁLISE UTILIZADOS	42
4.5.1.	Peso seco celular.....	42
4.5.2.	Análises de nitrato, nitrito e amônia.....	42
4.5.3.	Fósforo total - Método do ácido ascórbico	45
4.5.4.	Determinação do pH.....	45
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
5.1.	Etapa 1 – (Configuração 1) – Avaliação da intensidade luminosa em efluente sintético e aeração superficial.....	46
5.2.	Etapa 2 – (Configuração 1) – Diferentes concentrações de nitrato em efluente sintético e aeração superficial.....	47
5.3.	Etapa 3 e 4 – (Configuração 2) – Com aeração forçada e efluente sintético/real.....	51
5.4.	Etapa 5 – (Configuração 2) – Efluente real em processo semicontínuo e aeração forçada.....	54
6.	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS	60

1. INTRODUÇÃO

A expansão desordenada de áreas urbanas representa, muitas vezes, um risco ao meio ambiente e à saúde da população, uma vez que estas áreas surgem, frequentemente, sem qualquer planejamento e infraestrutura. Deste modo, muitas áreas urbanas não possuem estruturas de saneamento, como tratamento de águas residuárias e acesso a rede de abastecimento de água potável. Nestas ocasiões, é comum que as águas superficiais e subterrâneas da região sejam contaminadas, e ainda assim utilizadas pela população.

Segundo dados oficiais do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), em diagnóstico publicado em dezembro passado com ano de referência 2021, a média nacional de atendimento de água foi de 90,5% das populações áreas urbanas e 80,5% da população total, somente as regiões norte e nordeste ficam abaixo da média nacional quanto o abastecimento. No mesmo diagnóstico é encontrado também o índice de atendimento da rede de esgoto, tal que a média nacional para áreas urbanas foi de 47,4%, entretanto, o norte tem apenas 13,1%, enquanto o nordeste tem 30,3% de suas águas residuárias urbanas coletadas pelas redes de esgoto (BRASIL, 2021).

Uma solução ainda muito utilizada no país para as águas residuárias é a fossa séptica, entretanto, esta pode contribuir para a contaminação das águas subterrâneas por compostos nitrogenados. Segundo Lee et al. (2020), além da contaminação oriunda das áreas urbanas, os fertilizantes utilizados na agricultura e as florestas também podem ser fontes de nitrogênio e, portanto, de contaminação da água.

Em busca de uma forma alternativa e viável economicamente para o tratamento de água destinada ao abastecimento, em especial águas de poços subterrâneos contaminadas por nitrato, pondera-se a possível utilização de microalgas. As microalgas têm sido estudadas para a solução de vários problemas atuais da nossa sociedade, uma das aplicações mais estudadas é a produção de biocombustíveis, como o uso de microalgas para produção de etanol (DE FARIAS SILVA et al., 2018).

As microalgas possuem afinidade por alguns compostos nitrogenados, como o nitrato, estes são metabolizados promovendo o crescimento da biomassa e a redução da concentração do composto na água (AMINI; AMINI KHOEI; ERFANIFAR, 2019). Desta forma, as microalgas possuem potencial para serem aplicada no tratamento de água contaminada por nitrato.

Assim, este trabalho deu início as pesquisas voltadas para o tratamento de água utilizando microalgas, em especial a *Tetradasmus* sp. Tendo sido avaliada a capacidade da microalga na remoção de compostos nitrogenados em água subterrânea contaminada (principalmente nitrato), para reatores em batelada e semi-contínuo utilizando aeração natural superficial e forçada. Este estudo pode fornecer parâmetros de processos e operações para o tratamento biológico de água subterrânea contaminada por amônia, nitrito e nitrato, sem descartar a possibilidade de estudos futuros que viabilizem a utilização da biomassa microalgal produzida durante o processo.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a utilização de processo biológico mediado por microalgas para remover nitrato em águas subterrâneas visando abastecimento humano.

2.2. Específicos

- Avaliar em batelada a remoção de nitrato por microalgas;
- Verificar a influência da intensidade luminosa na remoção do nitrato;
- Testar diferentes concentrações de nitrato para verificar a potencialidade de remoção do processo;
- Verificar a utilização de aeração forçada em comparação a superficial (natural) para o desempenho de tratamento dos biorreatores;
- Adequar a concentração de nutrientes adicionais necessários ao crescimento da microalga e remoção do nitrato a níveis aceitáveis;
- Testar o reator em processo semi-contínuo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Água e as atividades humanas

O planeta terra possui aproximadamente 70% de sua superfície coberta por água, curiosamente este é o mesmo percentual médio de água no corpo humano. Entretanto, apenas 2,5% do volume total de água do planeta é água doce, além disto, cerca de dois terços da água doce está presa em geleiras, desta forma, somente 0,77% da água do planeta é água doce e de fácil acesso. O abastecimento humano e animal é o uso prioritário para a água, como definido pelo Plano Nacional de Recursos Hídricos, em caso de escassez. Vale lembrar que a água possui diversos usos além do abastecimento humano, como a irrigação, geração de energia, produção industrial, navegação e lazer. Cada um destes usos demanda qualidade e quantidade diferentes, e seus impactos também diferem (BRASIL, 1997; POSTEL; DAILY; EHRLICH, 1996; YASUI, 2014).

A priorização no uso da água para os seres vivos é fundamental, uma vez que é um dos recursos essenciais à vida e um equilíbrio adequado da distribuição de água no corpo humano é fundamental para manter todas as funções do corpo humano em pleno e adequado funcionamento. Para manter o equilíbrio de água no corpo, um adulto, normalmente, ingere de 2 a 3 litros de água diariamente e excreta praticamente o mesmo volume, assim alguém com 50kg que consuma 2,5 litros de água diariamente fará uma troca de mais de 7% da água presente em seu corpo (YASUI, 2014).

No entanto, não é mera a abundância de água em nosso planeta que a faz importante para o corpo humano. A água possui propriedades físico-químicas e estrutura molecular única tornando-se um elemento essencial à vida, sendo fundamental em diversos processos fisiológicos, por exemplo, na homeostase da temperatura corporal, no equilíbrio acidobásico e até mesmo na divisão celular, além disto ainda participa de diversas reações que ocorrem no corpo (RIVEROS-PEREZ; RIVEROS, 2018).

3.2. Formas de nitrogênio presentes na natureza

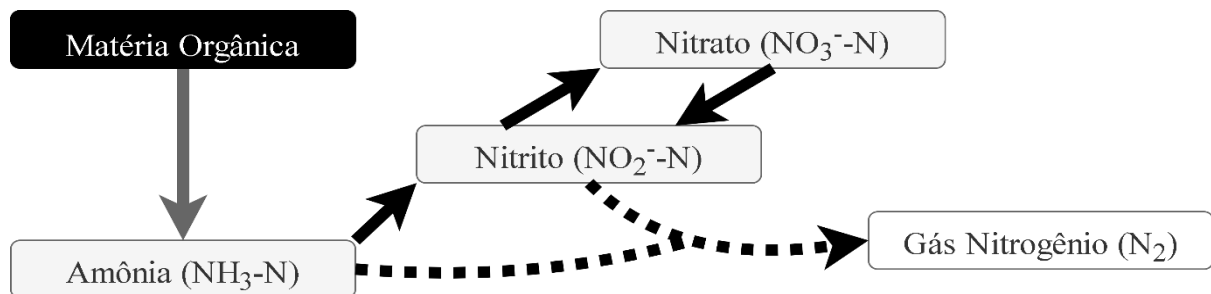
A concentração de compostos nitrogenados em nossas águas tem crescido conforme o desenvolvimento urbano, a expansão industrial e o avanço da agricultura. Essas atividades antrópicas são responsáveis por um grande despejo de nitrogênio na natureza, não só nas águas, mas também no solo e no ar. As maiores contribuições para este aumento da concentração são dadas, nas atividades agrícolas, pelo uso de fertilizantes nitrogenados, como a ureia que é

amplamente utilizada, e dejetos de origem animal; no esgoto sanitário, pelas excreções humanas; e nas indústrias, tanto os NOx oriundos da queima de combustíveis fósseis, quanto eventuais efluentes líquidos (BRASIL, 2005; HUANG et al., 2018).

Apesar do crescente volume dos compostos nitrogenados na natureza, em especial nas águas superficiais e subterrâneas, eles ocorrem naturalmente e são importantes para o equilíbrio na flora e fauna. A fonte primária dos compostos nitrogenados nas águas é a decomposição da matéria orgânica, alguns destes compostos encontrados na água são a amônia (NH_3^-), o amônio (NH_4^+), o nitrito (NO_2^-) e o nitrato (NO_3^-). Durante a decomposição da matéria orgânica, o pH é determinante na predominância do composto que será gerado, em pH mais básicos há a predominância da amônia, enquanto em pH neutro e ácidos há uma predominância de amônio (LI et al., 2020a).

Além da influência do pH na formação do composto predominante, também há a influência da temperatura na sua toxicidade para o ecossistema aquático, algumas espécies, como a truta-arco-íris é muito sensível a amônia. A amônia é facilmente degradada e consumida por fitoplânctons, macrófitas e outros organismos, porém a degradação da amônia pode gerar outros compostos, também nocivos à saúde e ao ecossistema, como mostrado na Figura 1. Portanto, a presença de amônia na água indica uma contaminação recente e é uma característica da poluição das águas superficiais, já o nitrato indica uma contaminação antiga, sendo uma característica das águas subterrâneas contaminadas (SHARP et al., 2020; SHEN et al., 2020; YAN et al., 2020).

Figura 1 - Degradação da matéria orgânica, nitrificação parcial e desnitrificação.



Fonte: Adaptado (SHARP et al., 2020).

3.3. Água para abastecimento

3.3.1. Características e parâmetros de potabilidade

A potabilidade ou não das águas superficiais ou subterrâneas são determinadas pela análise de suas características físicas, químicas e biológicas. Neste sentido, existem órgãos

internacionais, nacionais, estaduais e até mesmo municipais que possuem diferentes padrões para determinar a qualidade da água, entretanto, os parâmetros analisados, em geral, são os mesmos, mudando-se somente as faixas de classificação. O índice de qualidade da água (IQA) é também utilizado por muitos órgãos reguladores e fiscalizadores por todo mundo, foi criado em 1970 pela *National Sanitation Foundation* (NSF) (BROWN et al., 1972).

Os parâmetros que compõem o índice são oxigênio dissolvido, *E. coli*, pH, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), nitratos, fosfato total, variações de temperatura, turbidez e sólidos totais, cada um destes parâmetros possui um peso diferente no cálculo do IQA. A formulação utilizada para o cálculo do índice é mostrada na **Equação 1**.

$$IQA = \prod_{i=1}^n q_i^{w_i} \quad (1)$$

Onde:

IQA → Índice de Qualidade das Águas (0 a 100)

q_i → Qualidade do i -ésimo parâmetro (0 a 100)

w_i → Peso correspondente ao i -ésimo parâmetro, conforme a importância de sua função global para a qualidade da água (0 a 1)

n → Número de variáveis usadas para o cálculo do IQA.

Utilizando os resultados obtidos com a equação mostrada acima é possível classificar a água utilizando a Tabela 1 que traz a classificação segundo a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), que é referência nacional em qualidade ambiental e proteção à saúde pública, do IQA (CETESB, 2018).

Tabela 1 - Classificação da Água em Relação ao seu IQA.

Categoria	Ponderação
Ótima	$79 < IQA \leq 100$
Boa	$51 < IQA \leq 79$
Regular	$36 < IQA \leq 51$
Ruim	$19 < IQA \leq 36$
Péssima	$IQA \leq 19$

Fonte: Adaptado de CETESB (2018).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) produz o guia para qualidade de água potável e tem como público-alvo os gestores dos recursos hídricos ligados à água para abastecimento humano e faz uma análise dos parâmetros de potabilidade focada na promoção da saúde. A quarta edição do guia traz uma lista ampla de elementos que devem ser considerados na análise da qualidade da água, a compreensão da importância da prevenção de riscos de contaminação

da água na proteção da saúde humana, orientações para o controle, prevenção e gerenciamento dos riscos (WHO, 2017).

Já em âmbito nacional, o Ministério da Saúde (MS), dispõe sobre os padrões de potabilidade. De forma geral, seja para OMS ou MS, são considerados quatro aspectos para a análise da qualidade da água, microbiológico e desinfecção da água, químico, radiológico e a aceitabilidade, este último inclui sabor, odor e aparência (BRASIL, 2021).

Os padrões da OMS e do MS apresentam valores similares ou muito próximos para a maioria dos parâmetros, como nos aspectos microbiológicos, aspectos radiológicos e em grande parte dos aspectos químicos. Estes padrões elencados na Tabela 2 são os principais parâmetros relacionados à riscos de contaminação no consumo humano. Entre os contaminantes, merece destaque a concentração de nitrato permitida na água de abastecimento, nos padrões da MS tem-se um limite menor (44,27mg NO₃⁻/L) do que o recomendado pela OMS (50mg NO₃⁻/L).

Vale destacar que nem sempre existem valores de referência para contaminantes que possam causar efeitos à saúde humana, como é o caso de sulfetos que em alta concentração podem ocasionar efeitos laxativos. Por outro lado, existem fatores como cor, odor e sabor que estão ligados à aceitação da água pela população não representando riscos direto à saúde. Nestes aspectos pode-se afirmar que quanto a cor os padrões apresentados são similares, porém a OMS se mostra mais restritiva quanto a presença de odor e sabor na água potável.

Assim, a Tabela 2 traz alguns elementos que compõe os padrões que devem ser alcançados para redução dos riscos à saúde.

Tabela 2 - Padrões de Qualidade Exigidos pela OMS e MS.

Padrões de Qualidade			
Aspectos Microbiológicos			
Organismo	Valor Guia	OMS	MS

Padrões de Qualidade			
<i>E. coli</i> ou coliformes termotolerantes		Não detectável em 100ml de amostra	
Aspectos Químicos			
<i>Inorgânico</i>	<i>em mg/L</i>	<i>OMS</i>	<i>MS</i>
Arsênio		0,01	0,01
Bário		1,3	0,7
Boro		2,4	-
Cromo		0,05	0,05
Fluoreto		1,5	1,5
Selênio		0,04	0,04
Urânio		0,03	0,03
<i>Orgânico</i>			
Microcistina-LR		0,001	0,001
Aspectos Radiológicos			
<i>Referência</i>	<i>em Bq/L</i>	<i>OMS</i>	<i>MS</i>
<i>International Organization for Standardization</i>		0,02-0,1	0,5 ^b
<i>American Public Health Association</i>		0,02	1,0 ^c
Aspectos de Aceitabilidade^a			
<i>Referência</i>	<i>Valor Guia</i>	<i>OMS</i>	<i>MS</i>
Cor		15 TCU ^{d, f}	0,1-5,0 uT
Odor		Ausente ^{e, f}	Intensidade 6
Sabor		Ausente ^{e, f}	Intensidade 6
Nitrogênio			
<i>Para proteção contra metahemoglobinemia e os efeitos da tireoide em populações mais sensíveis.</i>			
	<i>em mg/L</i>	<i>OMS</i>	<i>MS</i>
Amônia		- ^g	1,46
Nitrito		3,0	3,28
Nitrato		50,0	44,27

a. Intensidade máxima de percepção para qualquer característica de gosto e odor.

b. Atividades Alfa.

c. Atividade Beta.

d. A cor está geralmente relacionada a presença de matéria orgânica, assim como do ferro e outros metais. A maior parte das pessoas pode detectar cor na faixa acima de 15 TCU em um copo de água.

e. Muitos minerais presentes na água podem fornecer a esta, odor e sabor, dependendo de suas concentrações, sem oferecer riscos à saúde. O guia traz as concentrações de tais minerais que conferem sabor, odor ou cor a água.

f. Nenhum valor de orientação, com base na saúde, é proposto pelo OMS para a cor, odor e sabor na água potável.

g. Para a OMS a amônia não é de relevância imediata para a saúde, de modo que nenhum valor de diretriz baseado na saúde é proposto.

Fonte: Adaptado da Organização Mundial da Saúde e Ministério da Saúde (WHO, 2017; BRASIL, 2021).

3.4. Nitrato e poluição das águas

A descarga de excrementos de origem humana em rios, canais e qualquer outro corpo d'água é uma das principais fontes de poluição das águas. Sua ocorrência é muito comum em

países em desenvolvimento, onde o saneamento básico é deficiente. Uma das soluções técnicas adotadas e aceitas na ausência de rede coletora de esgoto é o uso de fossa séptica, entretanto esta despeja no solo uma alta carga orgânica, de nutrientes e de patógenos que percolam pelo solo e chegam ao lençol freático, comprometendo a qualidade das águas subterrâneas. Além das águas residuárias domiciliares, a agricultura, através da fertilização do solo, também adiciona uma elevada carga de nutrientes. O nitrato não absorvido pelas plantas, é depositado no solo e corpos hídricos, contaminando-os (AL-ZREIQAT et al., 2018; CHAIWONG; KOOTTATEP; POLPRASERT, 2020; LEE et al., 2020).

O nitrato dissolvido na água ao chegar no consumidor final pode trazer diversos problemas de saúde, o mais conhecido deles é a metahemoglobinemia (meta-Hb), também conhecida por síndrome do bebê azul. A meta-Hb é relacionada à toxicidade aguda do nitrato, existe ainda a toxicidade crônica que provoca distúrbios da tireoide, a toxicidade reprodutiva que pode levar à incidência de aborto e má formação do feto e, por fim, a carcinogenicidade que relaciona o nitrato a alguns tipos de câncer (FAN, 2014; JOHNSON, 2019).

Segundo a Agência Europeia de Meio Ambiente, *European Environment Agency* (EEA), as águas subterrâneas da região apresentaram uma concentração média entre 18,8 e 19,6 mg nitrato/L no período de 2000 a 2017 (EEA, 2021). Em um estudo da região de Yerraguntla, na Índia, foi detectada uma concentração média de 86,13 mg de NO_3^-/L , em 40 amostras analisadas, das quais 42,5% não atenderam as concentrações recomendadas pela OMS, 50 mg de NO_3^-/L (SUVARNA et al., 2020).

No Brasil, a região metropolitana da capital potiguar, Natal, tem como principal fonte de abastecimento a água subterrânea. Segundo a Agência Nacional de Águas (ANA) a água utilizada para o abastecimento humano da região apresenta contaminação por nitrito e aponta como maior vilão a falta de saneamento básico, principalmente a coleta de esgoto. Para ilustrar, a cidade de Parnamirim tem apenas 1% de coleta de esgoto e Natal, cerca de 30%. Além disso, a vulnerabilidade natural da região é um fator agravante, o potencial contaminante de cargas poluidoras, nas zonas urbanas, varia entre moderado a alto (ANA, 2019; ALVES et al., 2016; SILVA et al., 2020; SILVA; MELO; DINIZ FILHO, 2020).

Por fim, uma pesquisa que avaliou a intrusão salina em parte do sistema Barreiras/Marituba, que abastece Maceió, por meio de amostras de poços, encontrou concentrações de nitrato entre 2,05 e 146,5 mg de NO_3^-/L . Destacando que 43% das amostras apresentaram concentrações superiores ao valor máximo permitido pela legislação vigente.

Além disso, em 2019 foi declarado pelo então presidente da Companhia de Saneamento de Alagoas (Casal), Eng. Clécio Falcão, que os seis poços existentes no bairro do Pinheiro, e operados pela companhia, estariam desativados a mais de 12 anos por apresentarem contaminantes, entre eles o nitrato (GAZETA DE ALAGOAS, 2019; DE OLIVEIRA et al., 2018).

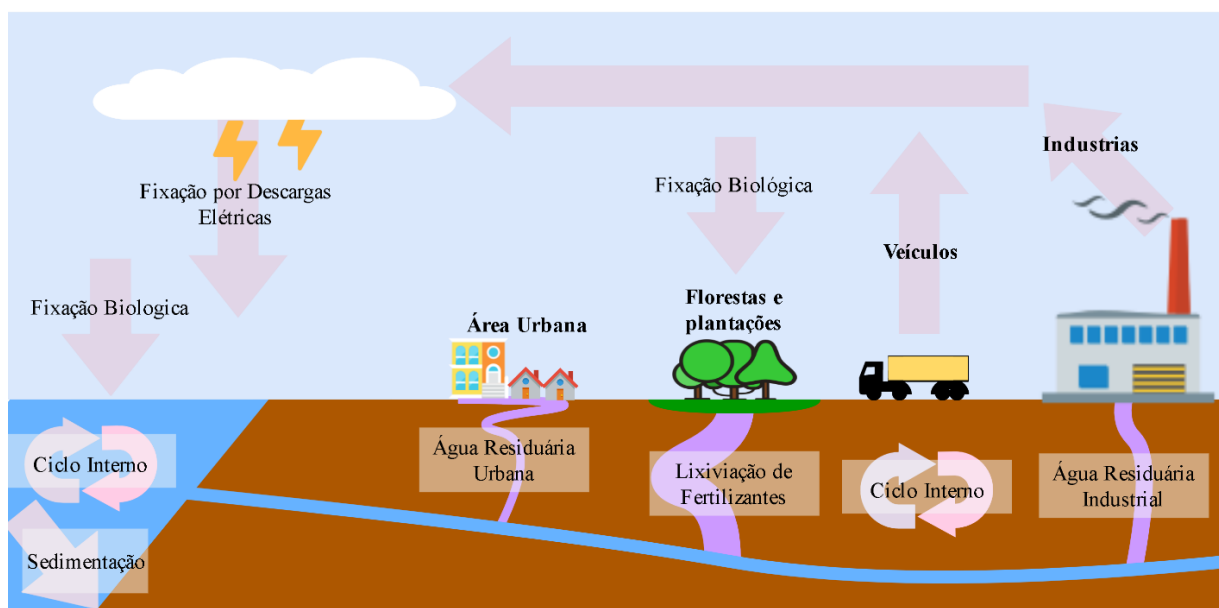
3.5. Nitrato na água

3.5.1. Ciclo do nitrogênio e as espécies químicas

O nitrogênio é encontrado de maneira mais abundante na natureza sob a forma de gás nitrogênio, N_2 . O gás nitrogênio representa cerca de 90% da reserva total de nitrogênio no planeta, sendo ele o principal componente na composição da atmosfera terrestre com aproximadamente 78% desta. O ciclo do nitrogênio, assim como o do carbono, é essencial para os seres vivos. As plantas, por exemplo, utilizam o nitrogênio como uma fonte de nutriente para seu crescimento e assim outros animais, como os seres humanos, incluem o nitrogênio em sua cadeia alimentar, entretanto, somente alguns organismos procarióticos podem converter o N_2 em NH_4^+ e com um elevado custo energético (CABELLO et al., 2019).

Apesar do nitrogênio ser importante e abundante na natureza, as atividades antrópicas são grandes influenciadoras da presença do nitrogênio no meio ambiente, influenciando o ciclo localmente ou de forma mais ampla. Entre os mecanismos presentes no ciclo do nitrogênio temos amonificação, anammox, assimilação de nitrato, comammox, desnitrificação, fixação, mineralização e nitrificação. Alguns destes processos ocorrem de forma aeróbias, enquanto outros são anaeróbios (BURT, 2018). A Figura 2 mostra o ciclo do nitrogênio, na atmosfera, no solo e na água.

Figura 2 - Ciclo do nitrogênio.



Fonte: Adaptado (BURT, 2018; HIRATA; SUHOGUSOFF, 2019)

Além dos processos naturais, as indústrias, a agricultura e a poluição do solo e da água contribuem para o ciclo do nitrogênio. Algumas ocasiões como nas grandes cidades podem ocorrer alterações mais vigorosas de forma local e ainda influenciar o ciclo global, como o caso da poluição atmosférica que pode contribuir para a formação de chuvas ácidas (HIRATA; SUHOGUSOFF, 2019; MOSIER et al., 2002).

Tratando da parte do ciclo do nitrogênio que ocorre no solo, e gera impactos também nas águas subterrâneas, temos como principais mecanismos mineralização, nitrificação, assimilação e a redução do nitrato, sendo as duas primeiras as rotas de produção que levam até o nitrato ($\text{NH}_3 \leftrightarrow \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) (POFFENBARGER; COYNE; FRYE, 2013).

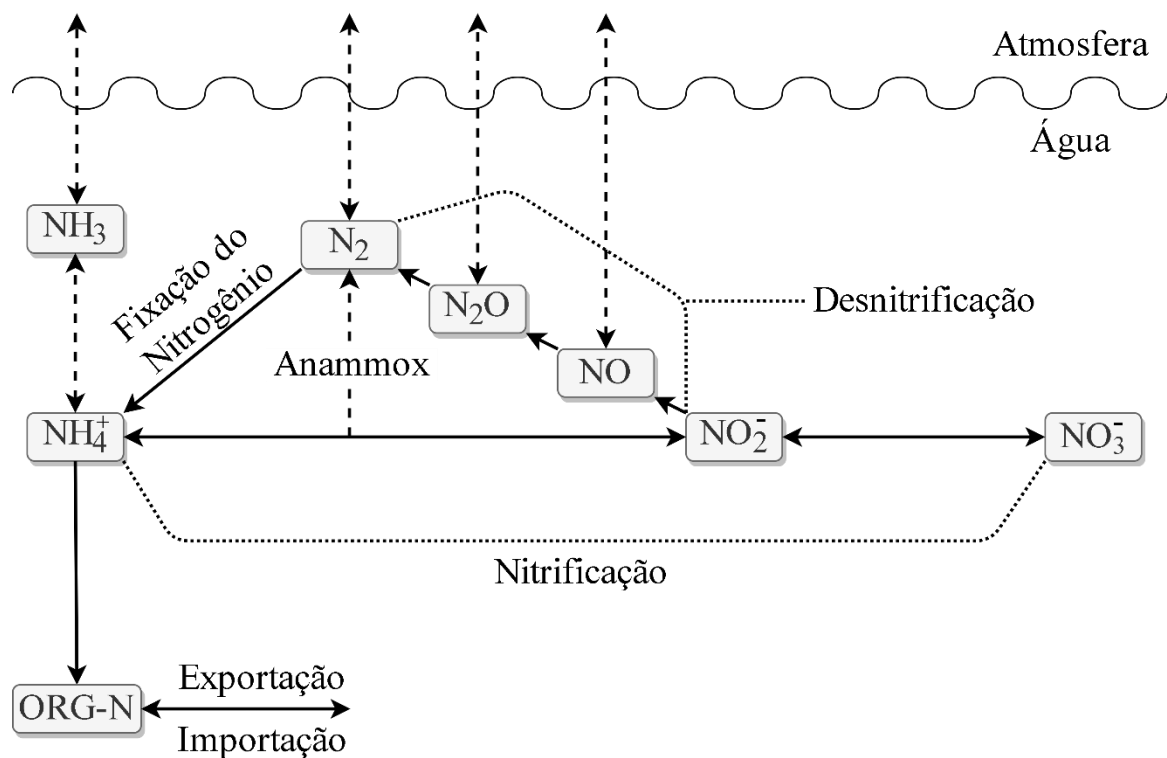
A mineralização consiste na quebra dos compostos orgânicos em inorgânicos, durante o processo; o nitrogênio orgânico é catabolizado em NH_3 e posteriormente em NH_4^+ . Por outro lado, na nitrificação; é caracterizada pela oxirredução das porções inorgânicas e orgânicas do nitrogênio, este é um processo aeróbio que pode ser promovido por algumas bactérias e fungos. Dentro da nitrificação existem a nitrificação autotrófica, que se acredita ser a predominante em solos da agricultura, a nitrificação heterotrófica inclui a produção de composto nitroso, potencialmente carcinogênico (POFFENBARGER; COYNE; FRYE, 2013).

Após os processos que dão origem ao nitrito e ao nitrato passa-se a assimilação do nitrato que pode ser feita por plantas, fungos, algas e bactérias, estas usam o nitrato como fonte

de nitrogênio para seu crescimento, através da redução do nitrato em amônio, no interior da célula (CABELLO et al., 2019).

Os mesmos mecanismos podem estar presentes no ciclo do nitrogênio em ambientes aquáticos. No caso da nitrificação pode ocorrer uma outra rota a *Anammox*, oxidação anaeróbia da amônia, neste caso o processo oxidativo utilizado pelas bactérias usa o NO_2^- e produz N_2 , porém sua ocorrência natural tem sido relatada principalmente em zonas mínimas de oxigênio (OMZ). Geralmente os mecanismos mais comuns são fixação do nitrogênio, oxidação de amônio, oxidação do nitrito em nitrato e desnitrificação. A Figura 3 ilustra as rotas, as espécies químicas e o mecanismo utilizado (KARL; MICHAELS, 2019).

Figura 3 - Rotas de interconversão entre as diferentes formas nitrogenadas.



Fonte: Adaptado (KARL & MICHAELS, 2019).

3.5.2. Perigos à saúde humana

O Nitrato é um composto que ocorre naturalmente no meio ambiente sendo parte integrante do ciclo do nitrogênio. As plantas absorvem o nitrato do solo e da água como sua fonte de nitrogênio, uma fonte essencial na composição de proteínas e, portanto, um elemento essencial à vida. Apesar disto, a exposição excessiva do corpo humano ao nitrato pode acarretar riscos à saúde. Os problemas relacionados à ingestão de nitrato surgem com sua conversão para nitrito, cerca de 5% do nitrato ingerido é convertido em nitrito. Estes problemas podem ser

classificados pela carcinogenicidade e toxicidade, sendo esta última dividida em toxicidade reprodutiva, aguda e crônica (FAN, 2014, 2019; VAN BREDA et al., 2019).

Alguns estudos sugerem uma relação entre o surgimento de cânceres gastrointestinais e a ingestão de nitrato. Em um destes, van Maanen et al. (1996) observou o aumento da excreção de N-nitrosaminas na urina da população exposta a um maior consumo de nitrato. O aumento mais substancial foi obtido para a exposição a altos níveis de nitrato na água. As N-nitrosaminas formadas na ingestão do nitrato não é o maior problema quanto a carcinogenicidade, mas sim suas derivações e as do nitrito que podem gerar composto carcinogênico N-nitroso (BUTLER, 2015; SUBRAMANIAN et al., 2014).

Nas considerações sobre toxicidade deve considerar inicialmente a toxicidade aguda e a crônica. A toxicidade crônica é a responsável por elevar os riscos dos efeitos carcinogênicos citados anteriormente, assim como são atribuídas algumas disfunções da tireoide - como o aumento do volume da glândula - e onde a toxicidade reprodutiva é mais comum. Como o nome sugere, na toxicidade reprodutiva os efeitos recaem sobre o sistema reprodutor, podendo ocasionar má formação do feto, aborto e restrição do crescimento intrauterino, por exemplo (FAN, 2014, 2019).

Por fim, a toxicidade aguda produz a condição mais conhecida quanto a ingestão de água contaminada por nitrato, trata-se da met-Hb, ou metahemoglobinemia, que afeta mais facilmente bebês com menos de seis meses de vida. Entre as diversas razões que justificam a maior incidência da condição neste grupo tem-se o fato dos recém-nascidos possuírem um pH gástrico mais alto que os adultos, favorecendo a conversão de nitrato em nitrito; também vale citar que há um maior consumo de água, proporcional ao peso, do que o observado em adultos. O nitrito convertido oxida a hemoglobina no corpo conferindo uma cor azul ao enfermo e, assim, justificando o nome popular dado à met-Hb, síndrome do bebê azul (JOHNSON, 2019; WARD; BRENDER, 2019).

3.5.3. Formas de remoção de nitrato em água

Os métodos de tratamento mais utilizados na remoção de nitrato são a troca iônica, osmose reversa, eletrodialise, desnitrificação química e desnitrificação biológica. Além disso, há a possibilidade do não tratamento, a depender de alguns fatores como localização, disponibilidade de recursos, a qualidade exigida da água etc. Nem sempre há a necessidade da completa remoção do nitrato, muitas vezes o que se deseja é reduzir as concentrações para os padrões aceitáveis ou exigidos (JENSEN et al., 2012; IMCHUEN et al., 2016).

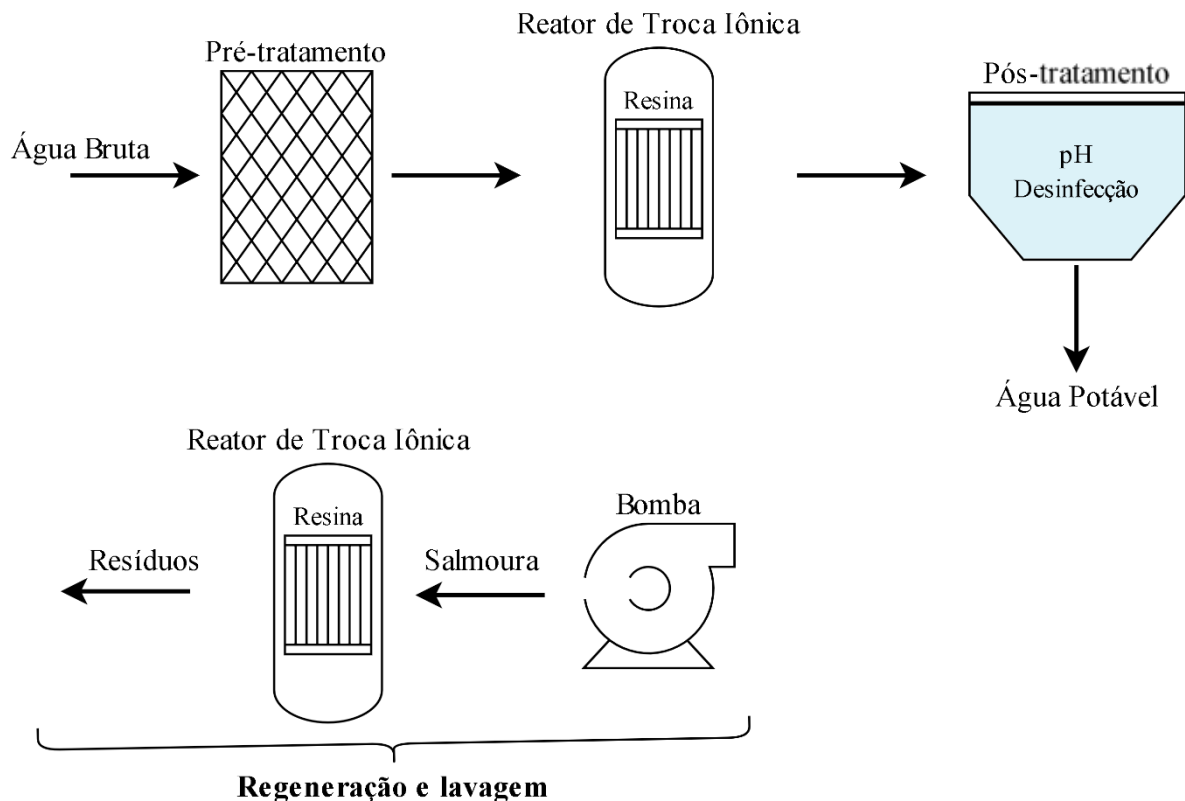
3.5.3.1. Troca iônica

A troca iônica é uma forma simples e efetiva para a remoção de nitrato e de outros sais presentes na água. Esta flexibilidade em remover diversos sais pode se tornar uma desvantagem quando há competição entre estes sais no processo. O processo de troca iônica consiste em proporcionar o contato da água bruta com a resina, e conseqüentemente provocar a reação de troca de íons de mesma valência, como observado na equação 2, onde R representa a matriz polimérica da resina (ANSARI; PARSA, 2016; LABARCA; BÓRQUEZ, 2020).



A Figura 4, ilustra um esquema convencional deste tipo de tratamento, composto por um pré-tratamento, para remoção de sólidos em suspensão e outras partículas, o tratamento, onde é promovido o contato da resina com a água bruta, o pós-tratamento, para ajuste de parâmetros, e por fim as etapas de regeneração e lavagem da resina, gerando resíduos concentrados.

Figura 4 - Esquema de tratamento por troca iônica padrão.

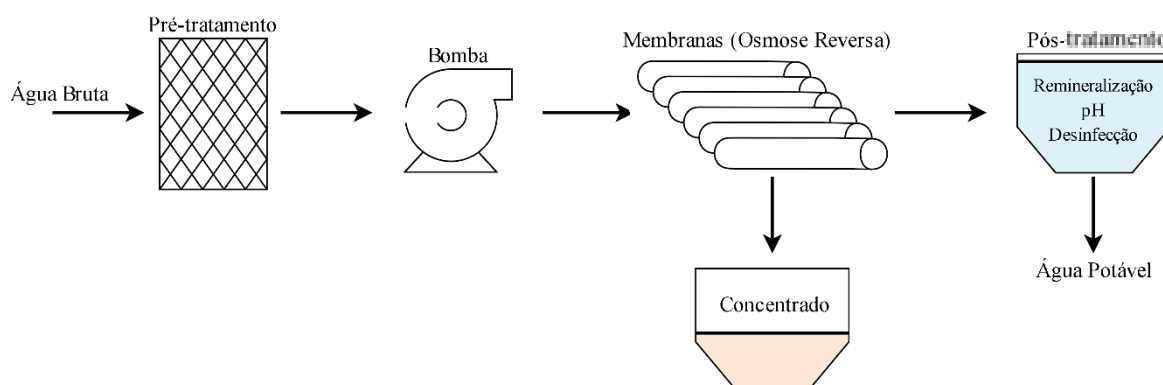


Fonte: Adaptado (JENSEN et al., 2012).

3.5.3.2. Osmose reversa

A osmose reversa é capaz de remover diversos tipos de contaminação simultaneamente, incluindo químicos, como o nitrato, biológicos e compostos químicos orgânicos. A operação de um sistema de tratamento de água por osmose reversa tem uma alta demanda energética, seu funcionamento se baseia em forçar a água pré-tratada a passar por uma membrana semipermeável. Os contaminantes são retidos na membrana, gerando dois efluentes, a água tratada e um concentrado com sais e outros contaminantes. A água tratada deve ter seus parâmetros ajustados e deve ser remineralizada, uma vez que os sais são retirados no processo (EPSZTEIN et al., 2015; KAR; BAHADUR, 2020; RICHARDS; VUACHÈRE; SCHÄFER, 2010). A Figura 5 traz o fluxograma de um sistema típico de osmose reversa.

Figura 5 - Esquema padrão de tratamento por osmose reversa.

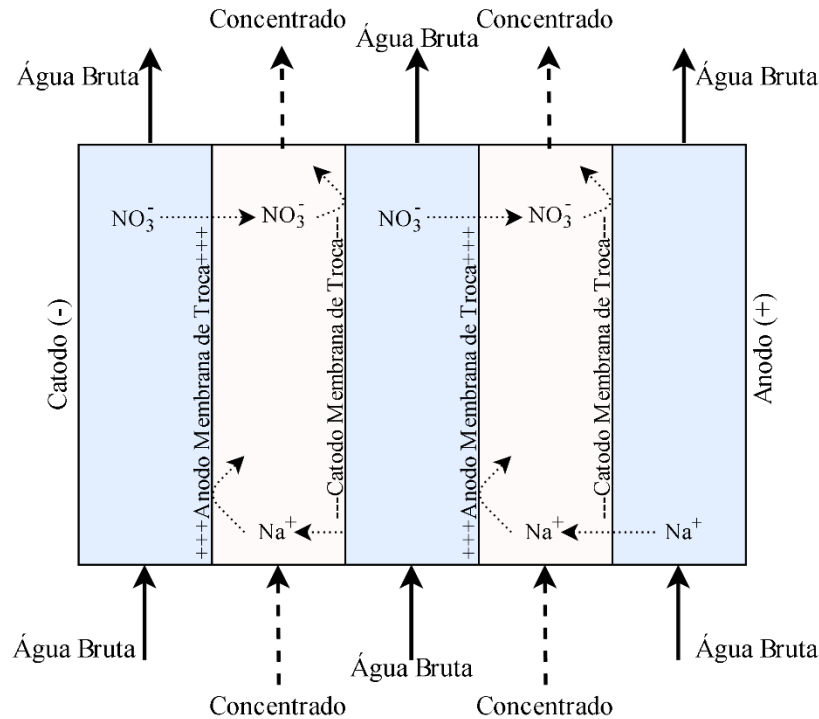


Fonte: Adaptado (EPSZTEIN et al., 2015; KAR; BAHADUR, 2020).

3.5.3.3. Eletrodialise

Assim como os métodos anteriores, na eletrodialise, há a necessidade de pré-tratamento da água bruta, em seguida a água entra em contato com a membrana de troca iônica e gradiente de potencial, onde ocorre a geração de um concentrado e de água limpa, esta segunda tem seus parâmetros ajustados, na etapa de pós-tratamento, finalizando em água potável. Para criar o gradiente de potencial passa-se uma corrente elétrica através do sistema composto por catodos e anodos, como ilustrado na Figura 6. Os sais carregados positivamente passam pela membrana de carga negativa (cátodo), mas são impedidas pela membrana com carga negativa (ânodo), sendo então arrastadas pelo fluxo de concentrado. O inverso ocorre com os sais de carga negativa (BELKADA et al., 2018; SAHLI et al., 2008; REN et al., 2018).

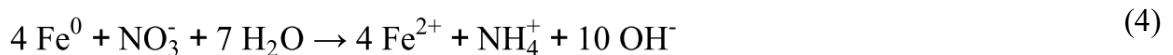
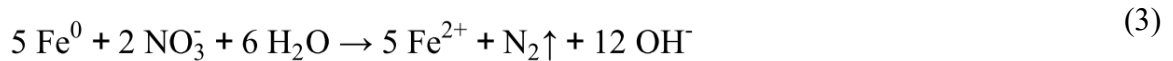
Figura 6 - Esquema padrão de tratamento por eletrodialíse.



Fonte: Adaptado (SAHLI et al., 2008).

3.5.3.4. Desnitrificação química

A desnitrificação química é realizada através da redução do nitrato por metais. Há uma diversidade de metais que podem ser utilizados para reduzir o nitrato, como alumínio e ferro, outros metais podem servir como catalisadores, por exemplo, o cobre e o paládio. Porém, o uso da desnitrificação química com o objetivo de fornecer água potável pode ser problemático, visto que durante o processo existe o risco da desnitrificação parcial, ou seja, o nitrato reduzido em amônia. As equações 3, 4, 5 e 6 mostram as reações ocorridas na desnitrificação química por ferro zero-valente (JENSEN et al., 2012; SI et al., 2020).



3.5.3.5. Desnitrificação biológica

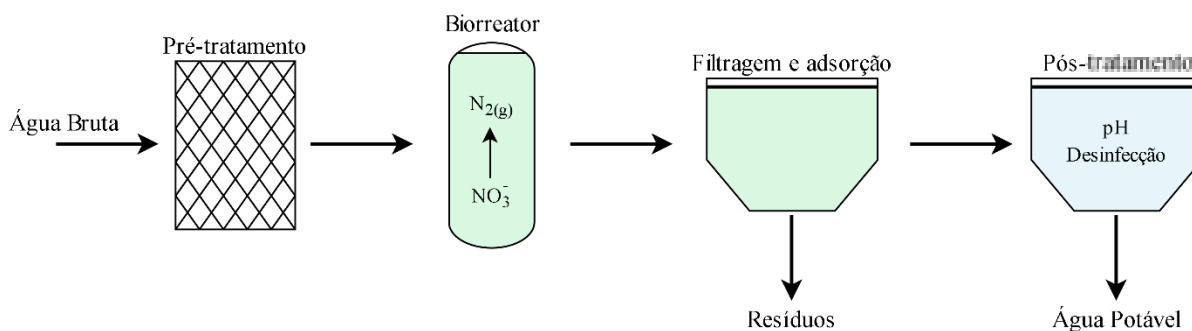
A desnitrificação biológica é a forma natural de desnitrificação e participa do ciclo do nitrogênio. Alguns microrganismos são excelentes na remoção de nitrato, nitrito, amônia e

outros nutrientes. O uso de tratamentos biológicos para remoção de nutrientes é a base das estações de tratamento de esgoto. Uma variedade de microrganismos pode ser utilizada na redução do nitrato, estes microrganismos reduzem o nitrato, conforme mostrado na **equação 7**. Uma das principais vantagens do tratamento biológico são os resíduos gerados, diferente dos anteriormente citados, os resíduos da desnitrificação biológica podem ser descartados em aterros sanitários, ou até utilizados na produção de biocombustíveis (ABE; IMAMAKI; HIRANO, 2002; JENSEN et al., 2012; QIE et al., 2019; ALVA et al., 2018).



A Figura 7 traz uma aplicação tradicional de um sistema biológico de desnitrificação.

Figura 7 - Esquema padrão do tratamento por desnitrificação biológica.



Fonte: Adaptado (JENSEN et al., 2012).

Por fim, mesmo com formas de tratamento mais avançadas e que garantem excelente qualidade de água, como a osmose reversa, a utilização da desnitrificação biológica pode ser valiosa para a adequação de águas de abastecimento contaminadas por nitrato, uma vez que a disposição dos resíduos do tratamento é mais fácil e os custos operacionais mais baixos. Além disto, o tipo de microrganismo proposto possui, sabidamente, afinidade pelo nitrato e é utilizado a décadas no tratamento de outros tipos de água, como na remoção de nutrientes em estações de tratamento de águas residuárias urbanas.

3.6. Microalgas

Para entender e aplicar as microalgas em bioprocessos é necessário mencionar principalmente três aspectos: as necessidades nutricionais e ambientais dessa classe de microrganismos, o tipo de cultivo com base nos nutrientes disponíveis, principalmente se carbono orgânico está presente no processo, e a forma de condução do processo a qual influencia diretamente na eficiência e produtividade do sistema.

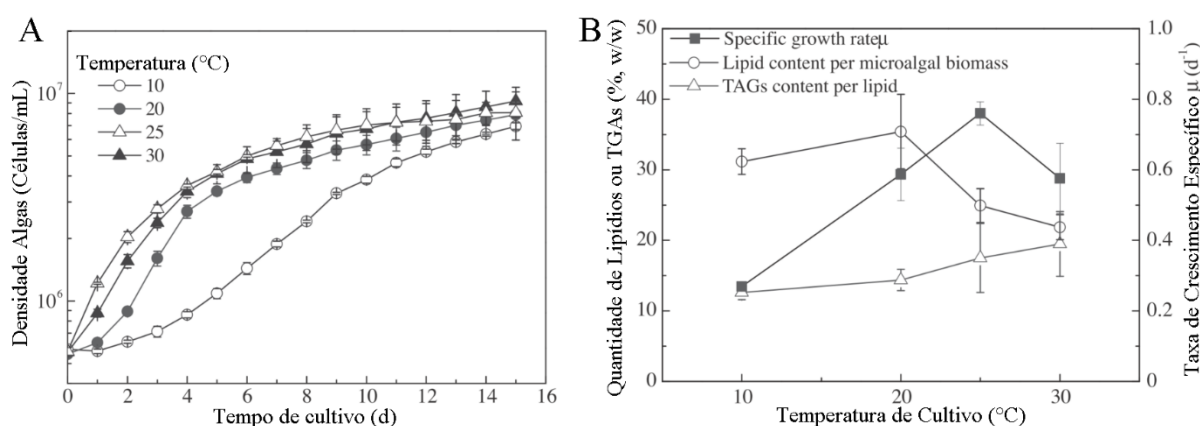
3.6.1. Requerimentos ambientais e nutricionais

Em termos de requerimentos ambientais das microalgas podemos destacar a temperatura, luz e salinidade. Além disto, existem também os requerimentos nutricionais, são diversificados os nutrientes exigidos pelas microalgas, porém os mais importantes são o carbono, nitrogênio e o fósforo. Alterações de concentração ou intensidade destes fatores podem provocar consequências desejadas que potencializa a produção ou as indesejadas que prejudica ou inibe a produtividade (MASOJÍDEK; TORZILLO, 2008).

3.6.1.1. Temperatura, luz e salinidade

A temperatura é muito importante para a bioquímica das microalgas, seus efeitos podem ser divididos em dois mecanismos: o primeiro mecanismo é o da dependência da temperatura para as reações químicas e bioquímicas e o segundo mecanismo é o da dependência para fixar o carbono da fotossíntese em vários tipos de macromoléculas (HU, 2013; SONMEZ et al., 2016). A faixa ótima para o desenvolvimento das microalgas varia de acordo com a espécie, o gênero *Arthrospira* (Spirulina), por exemplo, tem como faixa ótima de 35 a 38 °C e uma faixa mínima para o crescimento de 15 a 20 °C (BELAY, 2013). A mudança da temperatura para uma faixa fora do ótimo geralmente ocasiona uma queda nos lipídios totais, como pode ser observado na Figura 8, que traz a curva de crescimento e a quantidade de lipídios acumulados para cada temperatura (BOROWITZKA, 2013; XIN; HONG-YING; YU-PING, 2011).

Figura 8 - Curva de crescimento da *Scenedesmus sp. LX1* (A) e quantidade de lipídio por biomassa para diferentes temperaturas.



Fonte: (XIN; HONG-YING; YU-PING, 2011)

A luz é outro fator fundamental no desenvolvimento e crescimento das microalgas, uma vez que a composição bioquímica das algas é controlada pelo processo de fotoaclimação. Neste processo, quando ocorre uma diminuição da luminosidade, por exemplo, a dinâmica celular é alterada em sua composição, buscando facilitar a fotossíntese e o crescimento celular.

A resposta celular mais comum é o aumento na concentração de clorofila e outros pigmentos fotossintetizantes, como a clorofila b e c. No caso contrário, uma alta intensidade de luz, as células mudam sua composição diminuindo a concentração de seus fotossintetizadores, aumentando alguns elementos secundários como β - caroteno, luteína e astaxantina, que funcionam como agentes fotoprotetores (DA FONTOURA et al., 2017; DE FARIAS SILVA; SFORZA; BERTUCCO, 2018; HO; CHEN; CHANG, 2012; HU, 2013; MARONEZE et al., 2016).

Além da intensidade da luz, outro fator importante relacionado é o tempo de exposição, ou fotoperíodo, que influencia na remoção de nutrientes e no acúmulo de carboidratos pelas microalgas. Entretanto, em regiões tropicais, como o nordeste brasileiro, há pouca variação no fotoperíodo ao longo de todas as estações do ano (DE FARIAS SILVA; SFORZA; BERTUCCO, 2018; HAU; WIKELSKI; WINGFIELD, 1998).

As microalgas podem ser salinas ou de água doce, sendo a salinidade um fator essencial ou indesejado de acordo com a espécie. Entretanto, várias espécies podem suportar um aumento da salinidade, inclusive as de água doce. Ainda assim, a salinidade pode impactar o crescimento e a produtividade das microalgas, isso se deve aos seus efeitos sob a fisiologia e nos mecanismos bioquímicos de crescimento e desenvolvimento das microalgas. Ocorrendo a elevação da salinidade, pode haver o estresse osmótico, provocando a necessidade de adaptação a este ambiente. Nesta tentativa de se defender de danos que possam ser causados pela salinidade, há um aumento da síntese intracelular de lipídios e uma alteração do metabolismo dos ácidos graxos, elevando a concentração de lipídios e carboidratos, efeito desejado para a produção de biocombustíveis. Por outro lado, alterar a salinidade do ambiente pode ser uma ferramenta útil na inibição de organismos indesejados, competidores e predadores (ANYANWU et al., 2018; HU, 2013; PANCHHA et al., 2015; HOSSEINI; SHANG; SCOTT, 2018).

3.6.1.2. Carbono, nitrogênio e fósforo

Pensando em seres fotossintetizantes, produtores autotróficos, a absorção de CO_2 ou do HCO_3^- é essencial como fonte de carbono, de fato, entre 45 e 50% do peso seco das microalgas é carbono. Algumas fontes de carbono comuns na água são CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- e CO_3^{2-} , além de fonte de carbono também servem para o controle do pH, um parâmetro fundamental no desenvolvimento das microalgas. Porém, o suprimento natural de CO_2 em ambientes aquáticos não é suficiente para atender a alta demanda por carbono. Para se ter uma ideia, a taxa de difusão de CO_2 de origem atmosférica em lagoas abertas é de somente 10-12

g/m²d. Assim, a comunidade científica tem se voltado para alternativas que melhorem a disponibilidade de carbono em meios aquáticos, como por exemplo Laamanen et al. (2014) que mostrou a viabilidade da utilização de efluentes industriais gasosos para fornecer dióxido de carbono e calor para o cultivo de microalgas (RAJA et al., 2014; GROBBELAAR, 2013; HOSSEINI et al., 2015; SI et al., 2020).

O nitrogênio é responsável por 4 a 14% do peso seco das microalgas, sendo ele um constituinte essencial para todas as estruturas e funções proteicas dentro das células (DE FARIAS SILVA; SFORZA, 2016). O nitrogênio pode ser obtido através de uma variedade de fontes, como amônia, nitrato, nitrito e ureia, cada um destes pode ser usado para o crescimento e para a reprodução microbiana.

O fósforo é um outro importante macronutriente que possui um importante papel no metabolismo celular, formando várias estruturas e componentes essenciais ao crescimento microalgal. Conforme reportado por De Farias Silva e Sforza (2016) a relação entre o peso seco da biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* e a concentração de fósforo está entre 0,5 e 4% do peso seco total. O ortofosfato é incorporado nos componentes orgânicos através de vários tipos de fosforilação. Já a porção inorgânica, fosfato inorgânico, pode também ocorrer em células no formato de polifosfato (HU, 2013).

Como exemplos, a remoção total do N-NO₃⁻ (concentração de nitrogênio em forma de nitrato) e P-PO₄⁻³ (concentração de fósforo em forma de fosfato) pelas microalgas pode ser alcançada em oito dias com a *Acutodesmus dimorphus* ([N-NO₃⁻]_i de 277,4 mg/L), já a *Scenedesmus* spp. ASK22 é capaz de remover mais de 98% destes nutrientes em 12 dias, para [N-NO₃⁻]_i de 236,11 mg/L (HU, 2013; PANDEY; SRIVASTAVA; KUMAR, 2019).

3.6.1.3. Outros macro e micronutrientes

Vários elementos inorgânicos e orgânicos podem ser utilizados para nutrição das microalgas, além dos mais utilizados, especificamente, carbono, nitrogênio e fósforo; existem outros importantes nutrientes como o potássio, o ferro, o manganês e o cálcio, além de outros elementos em menor concentração tais como zinco, cobre, cobalto e boro. Muitos desses demais nutrientes são muito importantes em reações enzimáticas e biossíntese de compostos, o cobalto, por exemplo, é essencial para a produção da vitamina B₁₂. Desta forma, é importante monitorar estes outros nutrientes, pois suas concentrações podem afetar o desempenho das microalgas e consequentemente do sistema (GROBBELAAR, 2013).

3.6.2. Formas de cultivo

As microalgas vêm sendo amplamente estudadas, elas possuem uma promissora versatilidade e podem funcionar como fábrica para vários produtos, como por exemplo, pigmentos, biocombustíveis, plásticos verdes, produtos terapêuticos e até mesmo antibióticos. Para cada produto uma diferente forma de cultivo pode ser necessária (KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014).

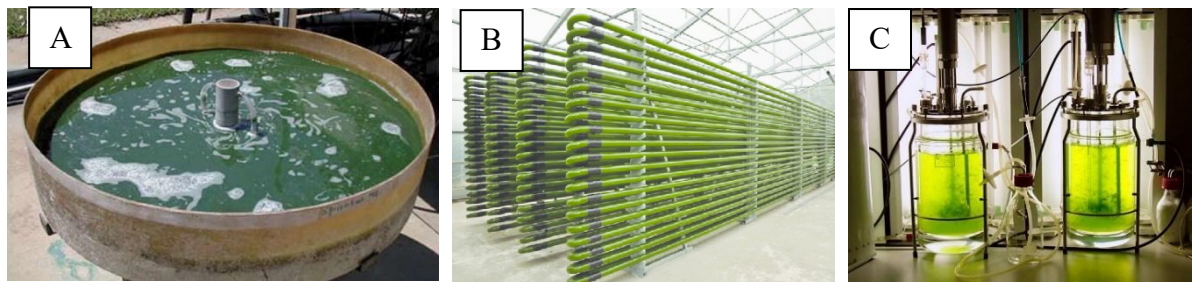
O cultivo pode ser realizado de várias formas, o sistema pode ser aberto ou fechado, o processo pode ser em batelada, semi-contínuo ou contínuo, e o metabolismo dominante das microalgas do sistema podem ser autotróficos, heterotróficos ou mixotróficos (YIN et al., 2020).

3.6.2.1. Sistema aberto ou sistema fechado

Os sistemas abertos compreendem lagoas (*open ponds*), *raceways* e tanques, a aplicação de um destes sistemas costuma ser vantajosa quando usados no tratamento de águas residuárias. Os custos de operação são mais baixos quando comparados com os sistemas fechados e muitas são as espécies que podem se desenvolver e crescer no sistema. A vantagem deste tipo de sistema não está somente relacionada aos custos operacionais, por ser um sistema mais robusto, ele também tem estruturas e operações mais simples. Entre as desvantagens do sistema tem-se a demanda por grandes áreas e uma subutilização da luz solar (ANYANWU et al., 2018; MASOJÍDEK; TORZILLO, 2008; YIN et al., 2020).

Por outro lado, os sistemas fechados são mais sofisticados, sua taxa produtiva é superior aos sistemas abertos, os reatores utilizados são conhecidos como fotobiorreatores (PBRs), estes podem ter diferentes formatos, por exemplo tubular ou plano, sendo a maioria tubular. Os PBRs oferecem uma melhor condição de controle do cultivo, sendo mais fácil acompanhar e corrigir os parâmetros em comparação com os sistemas abertos. Em consequência da sofisticação do sistema, maior produção e capacidade de controle ambiental, os sistemas fechados possuem um alto custo de implementação e operação, sendo esta sua maior desvantagem (ALASWAD et al., 2015; MASOJÍDEK; TORZILLO, 2008; YIN et al., 2020). Exemplos destes dois sistemas são mostrados na Figura 9.

Figura 9 - Tipos de fotobiorreatores, (A) sistema aberto - tanque circular, (B) sistema fechado - fotobiorreator tubular horizontal, (C) sistema fechado – fotobiorreator tubular horizontal.



Fonte:(ALASWAD et al., 2015; DECKER; RESKI, 2008; MASOJÍDEK; TORZILLO, 2008)

3.6.2.2. Batelada, semi-contínuo ou contínuo

Os processos descontínuos, ou em batelada, são amplamente utilizados na obtenção de vários produtos. A produção de microalgas em batelada é muito utilizada, especialmente em escala laboratorial. Nos processos em batelada a operação inicia-se com a adição dos nutrientes e inoculação dos microrganismos, nenhum outro componente é adicionado após a inoculação, exceto agentes que regulam os parâmetros operacionais, como ácidos e bases para o pH, e o oxigênio para microrganismos aeróbios. Ao final do processo todo conteúdo do reator é retirado, e antes de nova utilização o reator é esterilizado. Em relação ao seu uso no cultivo de microalgas, é importante ressaltar que há um baixo crescimento da biomassa, visto que a concentração de nutrientes decai com o tempo (SCHMIDELL, 2001; PALADINO; NEVIANI, 2020).

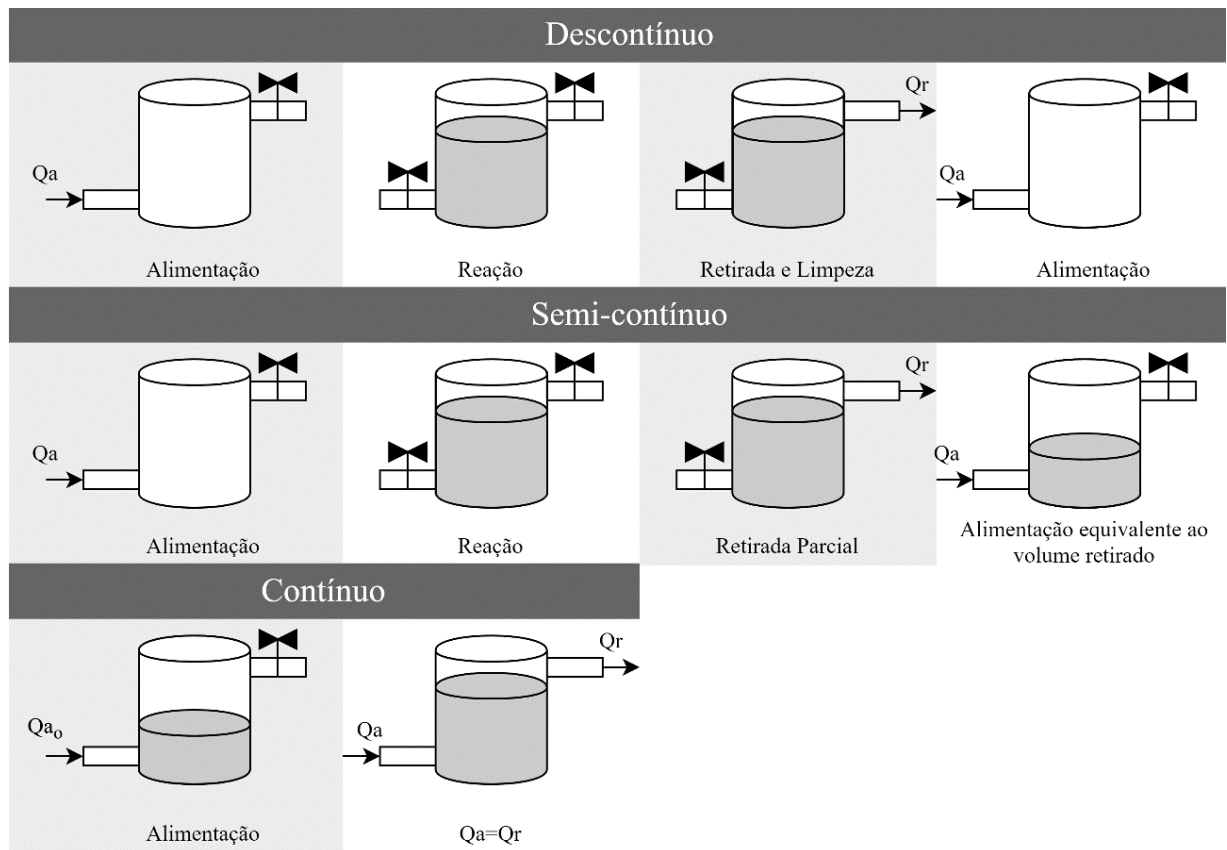
Uma alternativa é o processo semi-contínuo, neste tipo o início é similar ao processo em batelada, entretanto, ao fim do processo, retira-se parte do volume do reator, mantendo uma parte dos microrganismos e do meio de cultura utilizado no ciclo anterior, então, são adicionados mais nutrientes ao reator, com volume igual ao retirado na operação anterior. O processo semi-contínuo, em comparação ao processo em batelada, chega a produzir uma concentração de biomassa até três vezes superior (SCHMIDELL, 2001; KHOO; LAM; LEE, 2016).

Por fim, os sistemas e reatores contínuos são aqueles que operam em condição de estado estacionário (ou regime permanente), isto significa que é preciso manter o volume da reação constante, por meio da alimentação contínua, com vazão constante, e da retirada contínua e equivalente de produto. Entre as vantagens do processo contínuo está o aumento da produtividade do processo e a manutenção dos microrganismos no mesmo estado fisiológico. Algumas desvantagens do processo contínuo são um maior risco de contaminação e a

possibilidade de mutações genéticas espontâneas. Diferente da semi-contínua, a operação contínua, como o nome sugere, fornece continuamente os nutrientes necessários para o crescimento da biomassa, ao mesmo tempo que está também é retirada, o melhor desempenho do cultivo é encontrado neste último tipo de operação (SCHMIDELL, 2001; YIN et al., 2020).

A Figura 10 ilustra os ciclos de operação dos processos em batelada, semi-contínuo e contínuo.

Figura 10 - Processo descontínuo, semi-contínuo e contínuo.



Fonte: Adaptado (SCHMIDELL, 2001).

3.6.2.3. Cultura autotrófica, heterotrófica ou mixotrófica

Os termos autotrófico, heterotrófico e mixotrófico se referem ao comportamento da cultura microalgal em termos de conversão de carbono no processo de cultivo. Uma cultura autotrófica converte, através da fotossíntese, o carbono inorgânico em matéria orgânica de forma direta, sendo este a forma mais comum de cultivo das microalgas. Por outro lado, na heterotrófica há o consumo de carbono orgânico para o crescimento e a reprodução, não sendo necessária a presença da luz durante o processo. Por fim, o processo mixotrófico é quando ocorrem os dois processos anterior, autotrófico e heterotrófico. Neste caso, na presença de luz, ocorre tanto a assimilação do dióxido de carbono (porção inorgânica), quanto da glicose (porção

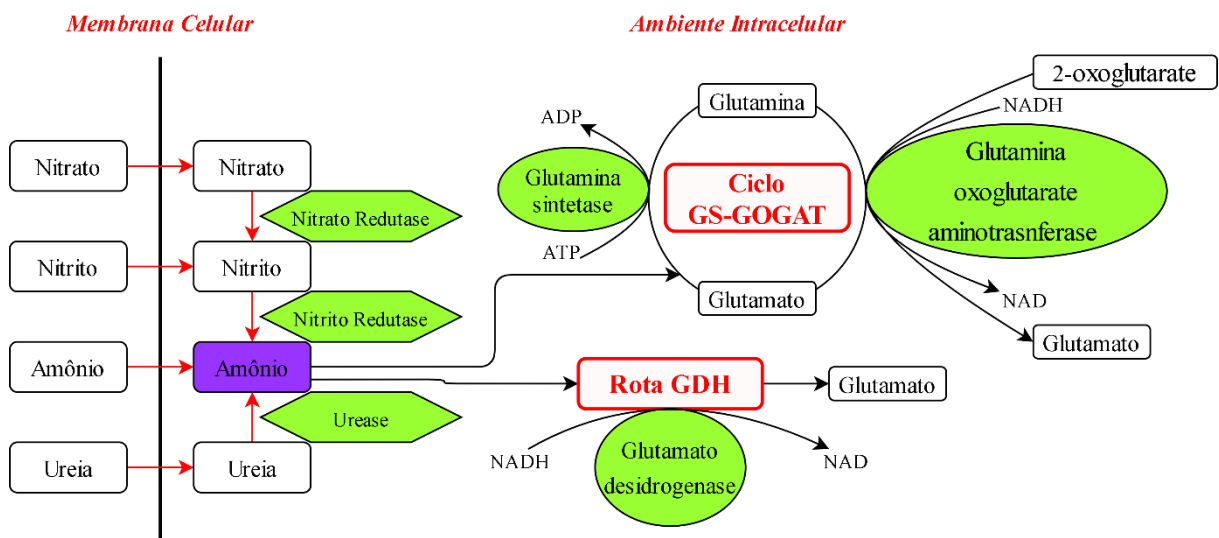
orgânica). Entre os três processos, o heterotrófico e o mixotrófico são os de melhor desempenho quanto a velocidade de crescimento da biomassa, uma vez que nestes tipos de cultura há o consumo de carbono orgânico, mais fácil de assimilar (ANYANWU et al., 2018; KIM et al., 2013; LI et al., 2020b; SONG; PEI, 2018; WANG et al., 2017).

Finalmente, sabendo que sistemas fechados permitem um maior controle da cultura, que o processo em batelada é a etapa inicial para se alcançar os demais processos, e que a água a ser tratada terá uma baixa disponibilidade de carbono orgânico, a forma de cultivo proposta é um sistema fechado, operado em batelada e com uma cultura autotrófica.

3.6.3. Bioquímica da assimilação de nitrato pelas microalgas

O nitrogênio é um elemento essencial para a síntese proteica, composição genética e acúmulo de energia no interior das células, em geral apenas um grupo seletivo de células conseguem fixar o nitrogênio em sua forma mais abundante, o gás nitrogênio (N_2). Felizmente existem outras fontes de nitrogênio na natureza, como a amônia, nitratos, nitritos e nitrogênio orgânicos. Dentro da célula o nitrogênio pode ser digerido ou reduzido. No caso de compostos como nitrito e nitrato, há um gasto energético celular para a redução em amônio e a incorporação da matéria orgânica. A preferência metabólica pelo NH_4^+ é justamente pela demanda energética gerada para a redução de outros compostos nitrogenados. Entretanto, existem exceções como a cianobactéria *Synechococcus*, que prefere o NO_3^- . (KARL; MICHAELS, 2019; ZHOU et al., 2020). A rota de assimilação do nitrato pode ser observada na Figura 11.

Figura 11 - Rotas de assimilação de nitrogênio típicas de uma célula microalgal.



Fonte: Adaptado (ZHOU et al., 2020).

Como observado na Figura 11, enzimas como a nitrato redutase e nitrito redutase trabalham no interior da célula para transformar NO_3^- em NO_2^- e, então, em amônio para que este seja utilizado pela célula. Inicialmente o nitrato que adentra a célula precisa ser reduzido em nitrito, através de nitrato redutase o processo é possível. A seguir é o nitrito que precisa ser reduzido a amônio, desta vez por meio da nitrito redutase. A assimilação de nitrato ocorre sob demanda energética por parte das enzimas, estas podem usar o NADH ou a Ferredoxina reduzida (Fd_{red}) como doadores de elétrons. Com a disponibilidade de amônio o processo de assimilação segue pela via glutamina sintetase – glutamina aminotransferase GS-GOGAT ou a do glutamato desidrogenase (GDH). A quantidade absorvida e assimilada de nitrogênio, pelas microalgas, é um fator determinante para o metabolismo, o crescimento e a concentração de proteínas no interior das células. Outra consequência, e resultado da assimilação de nitrato, nitrito e amônia, é a redução da concentração de nitrogênio total presente no meio (CABELLO et al., 2019; KARL; MICHAELS, 2019; ZHOU et al., 2020).

3.6.4. Microalgas e a capacidade de remoção de nutrientes

É de conhecimento da literatura que os gêneros de *Chlorella* e *Scenedesmus* (também relacionada de um ponto de vista filogenético com os gêneros *Tetradismus* e *Acutodesmus*) são muito eficientes na remoção de formas inorgânicas de nitrogênio, seja na forma de amônia, nitrito ou nitrato, utilizando desde efluentes sintéticos como o BG-11, assim como efluentes domésticos e industriais, até mesmo o efluente resultante de digestão anaeróbia, como mostrado na Tabela 3.

Se observa ainda que tanto sistemas abertos quanto fechados podem ser utilizados com a finalidade de remoção de nutrientes, sendo também observada elevada taxa de remoção desses contaminantes geralmente presentes em efluentes (Nitrogênio e Fósforo, principalmente).

Ainda na Tabela 3, é possível verificar que há utilização de aeração forçada ou natural, onde na forçada pode ser fornecida apenas ar atmosférico, ou ar atmosférico enriquecido com gás carbônico. Nesse caso, o que deve ponderar a escolha não é apenas a eficiência do processo, mas também sua viabilidade econômica.

Tabela 3 – Publicações de sistemas em batelada para remoção de nutrientes com microalgas.

Espécie	CO ₂ (% em ar)	Meio Cultura	Tipo do Reator	PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Inóculo (mg/L)	Dias	Aeração (vvm)	Produt. (mg/(L dia))	Conc. Inicial (mg/L)			Remoção			Autor
									[NH ₄ ⁺]	[NO ₃ ⁻]	[PO ₄ ³⁻]	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	
<i>Ch. so.</i>	12%	BBM	Tubular	80	20	4	0,2	83	-	235	29	-	95%	57%	Lizzul et al. (2014)
<i>Ch. vu.</i>	5%	BG-11	Tubular	150	500	8	0,5	180	-	450	50	-	92%	-	De Farias Silva et al. (2016)
<i>Ch. vu.</i>	0,04%	BG-11	Frasco	65	200	13	ND	77	-	2322	38	-	85%	95%	Vazirzadeh et al. (2021)
Mix	10%	ED	Frasco	180	1,3	28	0,5	200	36	84	17	95%	56%	86%	Almomani (2019)
<i>Sc. ob.</i>	15%	ED	Tubular	50	50	7	ND	44	0,5	38	5,2	100%	100%	100%	Ji et al. (2013)
<i>Sc. sp.</i>	2,5%	ED	Tubular	60	40	7	0,5	196	47	75	28	98%	70%	79%	Nayak et al. (2016a)
<i>Sc. sp.</i>	2,5%	ED	Tubular	50	40	7	0,5	186	47	75	28	95%	66%	72%	Nayak et al. (2016b)
<i>Sc. sp.</i>	2,5%	ED	Raceways	50	40	7	0,5	97	47	75	28	75%	50%	56%	Nayak et al. (2016b)
<i>Sc. sp.</i>	0,04%	ED	Frasco	97,5	165	24	superficial	151	300	-	6	78%	NA	95%	Da Fontoura et al. (2017)
<i>Sc. sp.</i>	6%	BBM	Tubular	50	110	15	0,5	60	-	-	-	-	-	-	Hosseini et al. (2015)
<i>Sc. sp.</i>	10%	BG-11 e EI	Frasco	80	100	15	0,2	130	-	137	46	-	42%	67%	López-Pacheco et al. (2021)
<i>Sc. sp.</i>	0,04%	EA	Raceways	Natural	70	9	superficial	144	249	-	75	99%	-	95%	Shayesteh et al. (2021)
<i>Sc. sp.</i>	0,04%	Sintético	Tubular	60	20	8	0,1	54	63	2,2	42	99%	97%	95%	Ye et al. (2020)
<i>Sc. sp.</i>	0,04%	BG-11 e ED	Frasco	55	50	12	superficial	219	-	1046	314	-	99%	100%	Pandey et al. (2019)
<i>Tet. ob.</i>	0,04%	BG-11 modificado	Tubular	100	48	15	superficial	<15	-	52	28	-	58%	12%	Este estudo
<i>Tet. ob.</i>	0,04%	Água de Poço	Tubular	100	50	9	0,5	94	9,0	130,1	29,6	100%	100%	94%	Este estudo

Ch. so. - *Chlorella sorokiniana*; *Ch. vu.* - *Chlorella vulgaris*; *Sc. ob.* - *Scenedesmus obliquus*; *Sc. sp.* - *Scenedesmus* sp; *Tet. ob.* - *Tetradesmus obliquus*; PPFD – Photosynthetic Photon Flux Density (Intensidade Luminosa); EA: Efluente Anaeróbio; ED: Esgoto Doméstico; EI: Efluente Industrial; ND: Não definido; BG-11: *Blue-Green Medium*; BBM: *Bold's Basal Medium*; Frasco: Erlenmeyer; Quando CO₂ for usado para aeração em 0,04% isso significa que a troca gasosa foi feita com ar atmosférico sem a adição de CO₂ concentrado.

Fonte: AUTOR (2021).

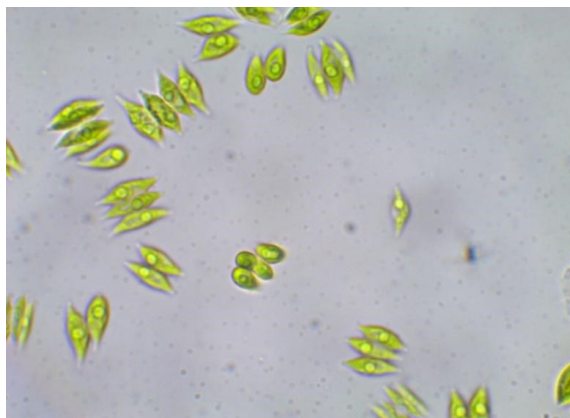
4. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia consistiu na seleção das cepas de microalgas, da espécie *Tetradismus obliquus*, utilizada no estudo. Em seguida, foram montados os biorreatores, em escala laboratorial, onde foram inoculados com a cepa, diferentes concentrações de nitrato e diferentes condições ambientais que serão explicados a seguir. O experimento ocorreu em batelada, a água a ser tratada foi produzida em laboratório por meio da adição de nitrato de sódio em concentrações conhecidas formulando um efluente sintético a partir da composição básica do meio BG-11. Posteriormente, foram realizados os tratamentos da água contaminada nas melhores condições encontradas com o efluente sintético (efluente real) e uma performance com um processo em batelada e em semicontínuo, esse último, realizado sob diferentes taxas de reposição volumétrica. Análises no início e final dos processos avaliaram a eficiência de remoção de nitrato sob as condições analisadas para os diferentes experimentos.

4.1. A espécie microalgal

A microalga utilizada foi a espécie *Tetradismus* sp. LCE-01, ilustrada na Figura 12, isolada por diluição seriada em meio BG-11 a partir de uma amostra de floração cedida pelo Departamento de Biologia da Universidade Federal de Alagoas. A manutenção da microalga foi realizada em meio solidificado de ágar nutriente (Kasvi®), e em meio líquido para uso como inóculo de BG-11 (*blue-green medium*) (RIPPKA et al., 1979). As concentrações de inóculo nos tanques serão de aproximadamente 40-50 mg/L de peso seco celular, com a finalidade de verificar a adaptabilidade da microalga em manter a dominância e a sobrevivência.

Figura 12 - Imagem de microscópio óptico da microalga *Scenedesmus* sp. LCE-01 com aumento de 1000x.



Fonte: AUTOR (2020).

4.2. Meio de cultivo utilizado nos experimentos

4.2.1. Experimentos preliminares – efluente sintético

Inicialmente foi utilizado como substrato dos reatores o meio de cultura BG-11 com modificações (efluente sintético) na concentração de nitrato e fósforo, para avaliar o comportamento quanto a disponibilidade desses nutrientes. Assim, a Tabela 4 traz a caracterização do efluente sintético utilizado.

Tabela 4 - Caracterização da água sintética por nitrato.

Composto	BG-11 (mg/L)	BG-11 modificado (mg/L)
Na ₂ Mg EDTA	1	1
Citrato férrico de amônio	6	6
Ácido cítrico. 1H ₂ O	6	6
CaCl ₂ .2H ₂ O	36	36
MgSO ₄ .7H ₂ O	30,5	30,5
H ₃ BO ₃	2,86	5,72
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81	3,62
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,222	0,444
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,079	0,158
COCl ₂ .6H ₂ O	0,05	0,1
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,391	0,782
Na ₂ CO ₃	20	20
NaNO ₃ *	1500	68,5 - 548,4
K ₂ HPO ₄ *	30,5	61

*Os estes compostos tiveram seus valores modificados conforme as exigências de cada etapa do experimento.

Fonte: AUTOR (2021).

4.2.2. Efluente real (água subterrânea contaminada por nitrato)

As amostras reais de água de poços contaminados por nitrato, nitrito e amônia foram fornecidas pela Companhia de Abastecimento e Saneamento de Alagoas (CASAL) (<https://www.casal.al.gov.br/>). Além das amostras, a CASAL forneceu laudo técnico, produzido em seu laboratório, contendo diversos parâmetros físico-químicos dos poços analisados. Para todos os efeitos durante o estudo os poços foram identificados somente por Poço A e Poço B, ambos localizados em área urbana do município de Maceió – AL. A Tabela 5, traz as análises feitas em laboratório para as formas inorgânicas de nitrogênio e fósforo.

Tabela 5 - Caracterização da água dos poços A e B, LTBA.

Parâmetros	VMP/VR*	Análise	
		Poço A	Poço B
Amônia	1,5mg/L NH ₄ ⁺	2,2	9,1
Nitrato	44,27 mg/L NO ₃ ⁻	96,9	130,1
Nitrito	3,28 mg/L NO ₂ ⁻	15,3	2,3
Fosfato Total	3,06 mg/L PO ₄ ³⁻	0,9	0,6
N Total (CASAL)	N mg/L	34,9	36,1
N Total (LTBA)	N mg/L	28,3	37,5

* Valor Máximo Permitido ou Valor de Referência.

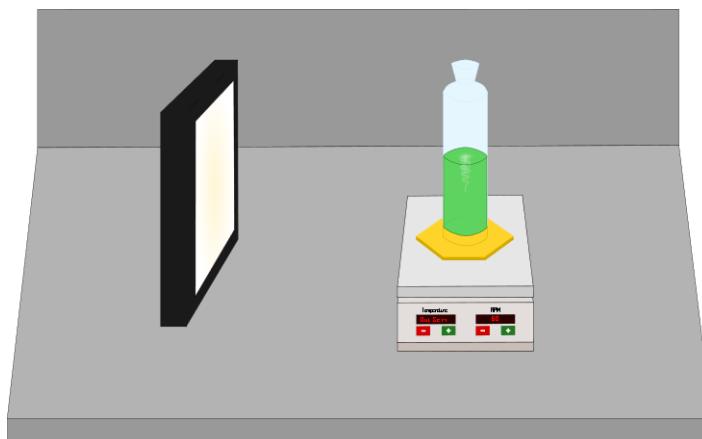
Fonte: AUTOR (2021).

Conforme observado na Tabela 5, a caracterização da água dos poços mostrou elevados teores de nitrato. Efetivamente, a concentração do composto foi até três vezes superior ao padrão máximo de potabilidade estabelecido pelo Ministério da Saúde do Brasil. Além do nitrato, também foi verificada a presença de Amônia em concentrações que superam de três a quatro vezes o limite recomendado para os mesmos padrões.

4.3. Sistema de cultivo

Foram utilizados como biorreatores vítreos cilíndricos Drechsel de 625mL (diâmetro interno de 60mm), com iluminação fornecida artificialmente durante todo o período do experimento (Plafon LED 25W 6500K) e com agitação realizada de duas maneiras distintas. Na primeira configuração a agitação foi realizada por agitadores magnéticos, tendo sido esta utilizada no experimento de análise da influência da intensidade luminosa sobre o biorreator (aeração apenas superficial). Para a primeira etapa foi utilizada uma frequência de 60 rpm, fornecida de maneira constante por agitadores magnéticos (SP LABOR®), conforme demonstrado na Figura 13. A fonte luminosa possuía fluxo constante, com isto a intensidade luminosa fornecida para os reatores era controlada pela distância entre a fonte de luz e o reator, assim a distância entre o reator e a fonte luminosa para 50, 100 e 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ medidas por um radiômetro (HD 2101.1 - Delta OHM). O volume utilizado foi de 500 mL.

Figura 13 – Configuração 1 do sistema de tratamento utilizado.



Fonte: AUTOR (2021).

Para a segunda configuração, utilizou-se compressores (VigoAr Mini - 2W) que promoviam agitação pneumática por inserção de ar atmosférico não estéril, tendo sido adotado também um reator de controle com o efluente e sem microalga, para que se houvesse certeza da contribuição da microalga ao processo, este procedimento tornou-se o padrão adotado nas demais etapas do experimento. Essa configuração consistiu na injeção de ar comprimido que além da agitação do substrato, também promovia a suplementação de CO₂ (caracterizando-se como um reator de coluna de bolhas), com uma taxa de 0,5 vvm, para 500mL de volume útil do reator. Padronizou-se uma intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para o processo, conforme demonstrado na Figura 14.

Figura 14 – Configuração 2 do sistema de tratamento utilizado.



Fonte: AUTOR (2021).

Finalmente, para os efluentes utilizados, fossem eles sintéticos ou reais, adotou-se uma faixa de pH entre 8,0-8,5 e temperatura ambiente que variava entre 30-35°C. No caso da amostra

sintética, o controle do pH foi realizado no início e fim do processo, visto que foi adicionada uma solução tampão (HEPES 50 mM), para avaliar a performance do microrganismo em efluente sintético. Em contrapartida, para o efluente real, o pH foi aferido e ajustado diariamente para adequar-se a faixa de pH 8,0-8,5, uma vez que utilizar um composto orgânico para formar o tampão não era o ideal visto que o tratamento da água subterrânea seria para posterior uso no abastecimento humano.

4.4. Experimentos realizados

Os experimentos realizados foram separados em etapas, as três primeiras ocorreram com amostras sintéticas baseadas no meio de cultura BG-11 modificado, estas foram autoclavadas a 121 °C por 15 minutos, além de possuir solução tampão, HEPES (50 mM) a pH 8,0-8,5. Por outro lado, os experimentos subsequentes, realizados com efluente real, foram conduzidos em condição não estéril e sem adição de uma solução tampão, para esta o único ajuste realizado era na concentração de fósforo total disponível. De modo geral as etapas 1 e 2, tiveram controle do sistema e retirada de amostras a cada dois dias, enquanto para as etapas 3, 4 e 5 o acompanhamento do biorreator e a retirada de amostras foi diário, além do ajuste de pH quando usado efluente real. Por fim, cada etapa contou com um reator controle, onde não foi adicionado nenhum inóculo inicial, porém este foi submetido aos mesmos fatores nutricionais, ambientais e operacionais que os demais reatores da etapa considerada.

4.4.1. Etapa 1 – (configuração 1) – avaliação da intensidade luminosa em efluente sintético e aeração superficial

Nesta etapa foram estudadas diferentes intensidades luminosas, testando-se as intensidades de 50, 100 e 200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (baseadas em experimentos com essa tipologia de microalga) (SILVA et al., 2019; DE FARIAS SILVA; SFORZA; BERTUCCO, 2018). Os biorreatores foram operados por 14 dias, em batelada, o substrato utilizado foi o BG-11 modificado (seção 4.2.1) (concentração inicial de nitrato em 70 mg/L), agitado magneticamente a 60 rpm e com aeração superficial.

4.4.2. Etapa 2 – (configuração 1) – diferentes concentrações de nitrato em efluente sintético e aeração superficial

A etapa 2 consistiu no estudo da influência de diferentes concentrações de nitrato sobre o desempenho da cultura. As concentrações nominais utilizadas nesta etapa foram 50, 100, 200 e 400 mg de NO_3/L . A operação dos biorreatores durou 15 dias, foi realizada em batelada, o

substrato utilizado foi o BG-11 modificado (seção 4.2.1), agitado magneticamente a 60 rpm, com aeração superficial e $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

4.4.3. Etapa 3 – (configuração 2) – com aeração forçada e efluente sintético

Assim como as etapas anteriores, a etapa 3 utilizou-se o BG-11 modificado (seção 4.2.1) como meio de cultura para as microalgas, uma intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e uma concentração de $100 \text{ mg NO}_3/\text{L}$. Todavia, devido ao baixo desempenho no crescimento microalgal, observado nas etapas anteriores, a suplementação de ar/ CO_2 (aeração forçada) foi realizada, com uma taxa de 0,5 vvm.

4.4.4. Etapa 4 – (configuração 2) – efluente real sob aeração forçada

Após os estudos com a amostra sintética, baseado no BG-11 modificado (seção 4.2.1), o biorreator foi configurado para receber o efluente real. As configurações adotadas para o sistema contaram com uma intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a injeção de ar com taxa de 0,5 vvm, uma concentração de nitrato entre 90 e 130 mg/L (dependendo do poço) (seção 4.2.2) e a operação em batelada por 9 dias. Diferentemente do realizado para o efluente sintético (que continha tampão – HEPES), o pH dos reatores com o efluente real era medido e ajustado diariamente, quando necessário.

4.4.5. Etapa 5 – (configuração 2) – efluente em processo semi-contínuo e aeração forçada

Finalmente, foi realizado estudo do desempenho dos biorreatores para diferentes taxas de reposição volumétrica do efluente, operando de forma semi-contínua, sendo avaliadas as taxas de 20, 40, 60 e 80% de retirada/inserção (v/v) do sistema. Nesta etapa, as retiradas e reposições foram realizadas inicialmente a partir do sétimo dia (primeira curva de crescimento em batelada e tempo necessário para adaptabilidade e crescimento da microalga e tratamento do nitrato) e após isso a cada 3 dias (microrganismo já crescido e adaptado), totalizando 19 dias de experimento (formando uma etapa em batelada de 7 dias e uma semi-contínua com 4 ciclos, de 3 dias cada, para a reposição). A operação dos biorreatores foi configurada com os mesmos parâmetros utilizados na etapa 4, sendo utilizada a concentração inicial de nitrato em torno de $130 \text{ mg de NO}_3/\text{L}$ e inoculação inicial de $50 \text{ mg de microalga/L}$ (peso seco celular).

4.5. Métodos de análise utilizados

Os principais parâmetros utilizados na caracterização dos efluentes foram: sólidos totais (por gravimetria), para medir a massa algal formada (também chamada de peso seco celular); amônia, nitrito e nitrato, compostos de nitrogênio inorgânico diretamente associados ao estudo; e fosfato total, um importante nutriente para o desenvolvimento da microalga.

As amostras passaram por centrifugação a 3500 rpm por 25 min (Centrifuga ACB Labor Dry-Bloch), para separar a fase sólida (lodo microbiano) da líquida, onde os contaminantes foram mensurados. Em seguida, as amostras passaram por filtração, sendo utilizados filtros de PES (polietersulfona) hidrofílico e de acetato celulose em 0,45 e 0,22 μm (Kasvi®), respectivamente, para eliminar eventuais sólidos que não fossem eficientemente removidos na centrifugação e pudessem afetar as análises.

4.5.1. Peso seco celular

O peso seco foi obtido por gravimetria utilizando membranas de nitrato de celulose de 0,45 μm (Unifil®). As membranas eram pesadas, em balança de precisão de 0,0001g. Após isto, foram coletados volumes de amostra que variaram entre 5 e 50 mL, a depender da concentração de biomassa nos reatores, estes foram filtrados utilizando a membrana, previamente pesada, e com auxílio de uma bomba de vácuo. Por fim, as membranas foram levadas a estufa (60°C) até peso constante, o cálculo do peso seco celular pode ser observado na equação 8.

Cálculo:

$$\text{Peso seco celular (PS)} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = \frac{N}{V} \cdot 10^6 \quad (8)$$

Onde:

N = massa do resíduo seco (massa da cápsula com o extrato seco menos a tara da cápsula) em g;

V = volume tomado da amostra, em mL.

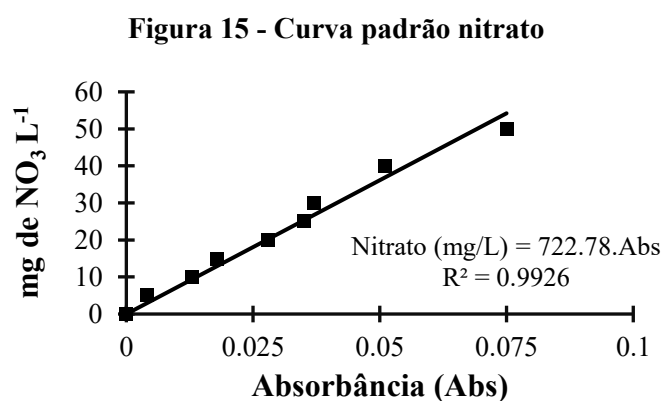
4.5.2. Análises de nitrato, nitrito e amônia

As análises de nitrato, de nitrito e de amônia foram realizadas com o uso de kits da HANNA INSTRUMENTS®, respectivamente os kits HI93728, HI93708 e HI93715.

4.5.2.1. Análise de nitrato - método da redução por cádmio

Este método foi adaptado pela HANNA INSTRUMENTS®. O método consiste na redução do nitrato em nitrito pelo cádmio metálico, que então reage com o ácido sulfanílico formando um sal intermediário (sal de diazônio) que, por fim, se liga ao ácido gentísico produzindo uma solução de coloração âmbar (APHA, 2018b).

Em tubos de ensaio de 5 mL foram adicionados 2 mL da amostra. Para cada 2 mL de amostra 0,080 gramas do kit HI93728 foram acrescentados ao tubo de ensaio. Após a adição do reagente, o tubo era agitado por 60 segundos e então reservado para reação por 9 min totalizando 10 min de contato. Por fim, após quatro minutos as amostras com o reagente foram transferidas para a cubeta e as leituras feitas em espectrofotômetro a 525 nm (SHIMADZU, UV-mini 1240). Para a construção da curva padrão, Figura 15 utilizando nitrato de sódio com fonte de nitrato.



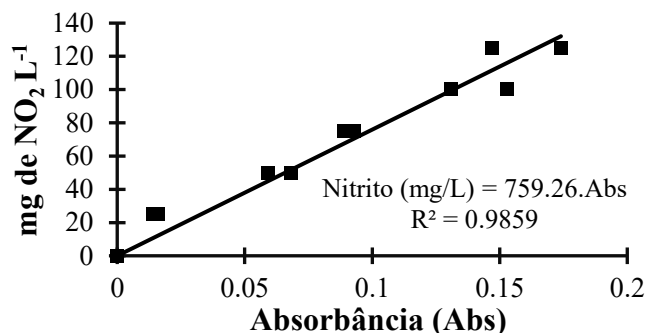
Fonte: AUTOR (2021).

4.5.2.2. Análise de nitrito - método da solução de sulfato ferroso

Este método foi adaptado pela HANNA INSTRUMENTS®. O método consiste no uso de sulfato ferroso em meio ácido para reduzir o nitrito a óxido nítrico. Então, íons ferrosos combinam-se com estes óxidos nítricos formando um complexo de coloração marrom-esverdeado que é proporcional à concentração de nitrito presente (HANNA INSTRUMENTS, 1998a).

Em tubos de ensaio de 5 mL foram adicionados 2 mL da amostra. Para cada 2 mL de amostra 0,105 gramas do kit HI93708 foram acrescentados ao tubo de ensaio. Após a adição do reagente o tubo foi agitado gentilmente e então reservado por 10 minutos para que a reação fosse completada. Por fim, as amostras com o reagente foram transferidas para a cubeta e as leituras feitas em espectrofotômetro a 575 nm (SHIMADZU, UV-mini 1240). Para a construção da curva padrão, Figura 16, utilizou-se nitrito de sódio como fonte de nitrito.

Figura 16 - Curva padrão nitrito.



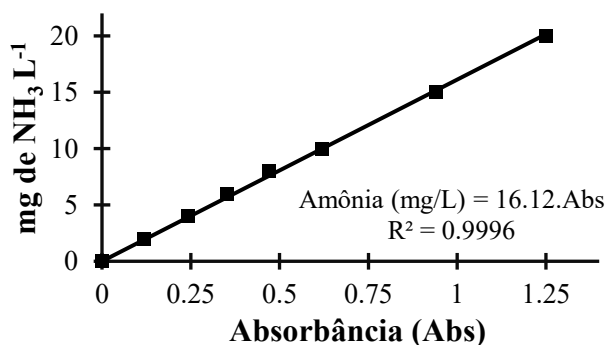
Fonte: AUTOR (2021).

4.5.2.3. Análise de amônia - método de Nessler

Este método foi adaptado pela HANNA INSTRUMENTS®. O método consiste no uso de duas soluções reagentes, a primeira delas tem a função de tornar a amostra alcalina de modo a converter os íons amônio em amônia, então o segundo, o reagente de Nessler é adicionado e reage com a amônia causando uma pigmentação amarelada na amostra (HANNA INSTRUMENTS, 1998b).

Em tubos de ensaio de 5 mL foram adicionados 2 mL da amostra. Para cada 2 mL de amostra foi adicionada uma gota do reagente A do kit HI93715. Em seguida, o tubo de ensaio foi fechado e agitado por 30 segundos e, então, uma gota do reagente de Nessler foi adicionada, sendo o tubo de ensaio novamente fechado e agitado pelo mesmo tempo. Por fim, após 10 minutos do fim da agitação as amostras com o reagente foram transferidas para uma cubeta e as leituras feitas em espectrofotômetro a 470 nm (SHIMADZU, UV-mini 1240). Para a construção da curva padrão, Figura 17, utilizou-se cloreto de amônio.

Figura 17 - Curva padrão amônia.



Fonte: AUTOR (2021).

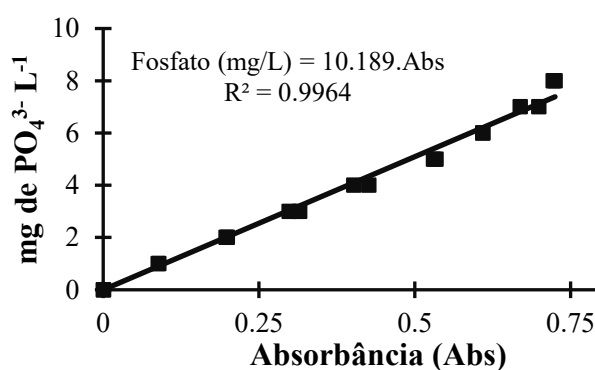
4.5.3. Fósforo total - método do ácido ascórbico

O método utilizado para medir a concentração de fósforo nas amostras foi o método do ácido ascórbico, nele as formas de fósforo são convertidas em ortofosfato que por sua vez são ligados e concentrados. O molibdato em solução ácida presente na reação produz o ácido fosfomolibdico, este em contato com o ácido ascórbico é reduzido gerando uma coloração azul (APHA, 2018c).

Em tubos de ensaio de 5 mL foram adicionados 2 mL da amostra. Para cada 2 mL de amostra foi adicionada uma 0,4 mL da solução desenvolvedora de cor. Em seguida, o tubo de ensaio foi fechado e agitado gentilmente por 30 segundos e então aguardou-se 10 minutos antes de realizar a leitura em espectrofotômetro a 706 nm (SHIMADZU, UV-mini 1240).

Para a solução desenvolvedora de cor as seguintes soluções foram utilizadas: Ácido Sulfúrico (5N, solução A), $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 1/2 \cdot H_2O$ (2,743 g/L, solução B), $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 \cdot H_2O$ (40 g/L, solução C) e ácido ascórbico 0,01M (17,6 g/L, solução D). As frações dessas soluções para obter a solução desenvolvedora de cor foram: A = 0,5; B=0,05; C=0,15; D=0,3. Os resultados obtidos no espectrofotômetro foram avaliados com auxílio da curva padrão de fósforo total, uma solução mãe de fósforo monobásico de potássio foi utilizada, Figura 18.

Figura 18 - Curva padrão de fósforo total.



Fonte: AUTOR (2021).

4.5.4. Determinação do pH

A medição do pH foi realizada diretamente nos reatores. Determinou-se o pH com o aparelho previamente aferido (tampões pH 4,0 e pH 7,0), operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante (TECNAL®).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

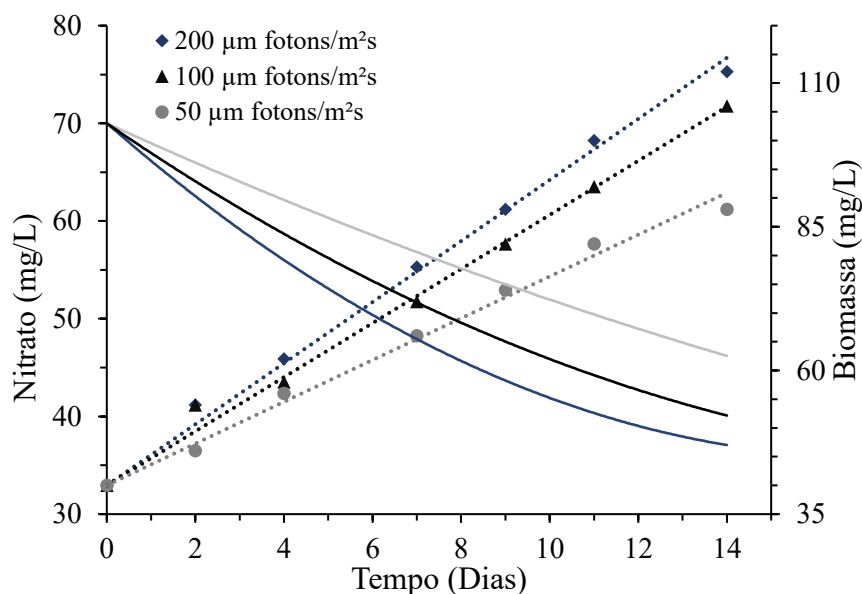
Através dos ensaios realizados foi possível avaliar diferentes cenários para o desenvolvimento da cultura microalgal e sua eficiência na remoção de contaminantes de origem nitrogenada, amônia, nitrito e nitrato, além de outros contaminantes presentes no efluente, como o fosfato. Os experimentos foram iniciados com a avaliação da influência da luminosidade, com aeração natural e superficial utilizando efluente sintético, baseado no meio de cultura BG-11, como anteriormente mencionado (seção 4.2.1). Em seguida foram estudadas diferentes concentrações do contaminante (nitrato) sob o mesmo sistema de tratamento. Dando continuidade ao estudo, o reator foi reconfigurado para receber aeração forçada sendo agitado pneumáticamente (reator de coluna de bolhas), em busca de uma maior taxa de crescimento da biomassa e conseqüentemente remoção de contaminantes e após verificada sua eficiência, foi iniciada a etapa de tratamento utilizando o efluente real, fornecida pela CASAL, sendo necessário, a suplementação de fósforo no efluente. Por fim, realizou-se o processo em modo semi-contínuo da água subterrânea contaminada, e nessa etapa foi analisada as proporções de reposição/adição de efluente no reator.

5.1. Etapa 1 (configuração 1) – avaliação da intensidade luminosa em efluente sintético e aeração superficial

Inicialmente foi testado o cultivo das microalgas utilizando o BG-11 modificado o qual continha cerca de 35 mg/L de fosfato total e 70 mg/L de nitrato. Utilizou-se uma quantidade baixa de inóculo (em torno de 40 mg/L), pois como foi utilizando um sistema não axênico, era necessário garantir que a microalga era capaz de sobreviver e se multiplicar no meio. Além disso, foi realizado um controle sem a presença da microalga nas mesmas condições experimentais de forma a verificar se houve alguma remoção das espécies nitrogenadas (nitrito e/ou nitrito e/ou amônia) o que se percebeu não haver remoção da concentração de nitrogênio total.

Pela Figura 19 é possível observar que o crescimento da microalga após 15 dias não foi significativo, mesmo em diferentes intensidades luminosas. Isso reflete que a aeração superficial nesse tipo de tratamento e durante 15 dias foi insuficiente para desenvolvimento da microalga, mesmo sob agitação. A concentração de biomassa alcançada ficou entre 88-118 mg/L, enquanto o percentual de remoção de nitrato ficou entre 35-47% (não significativo entre as diferentes intensidades).

Figura 19 - Crescimento da *Tetrademus* sp. sob a influência de diferentes luminosidades.



Fonte: AUTOR (2021).

Como não houve diferença significativa no crescimento com as intensidades luminosas utilizadas, e na literatura como mostrado por De Farias Silva e Sforza (2016) e Da Fontoura et al. (2017), bons resultados puderam ser encontrados para o crescimento sob aeração forçada com valores entre 100-200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nesse sentido, decidiu-se continuar os experimentos utilizando 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

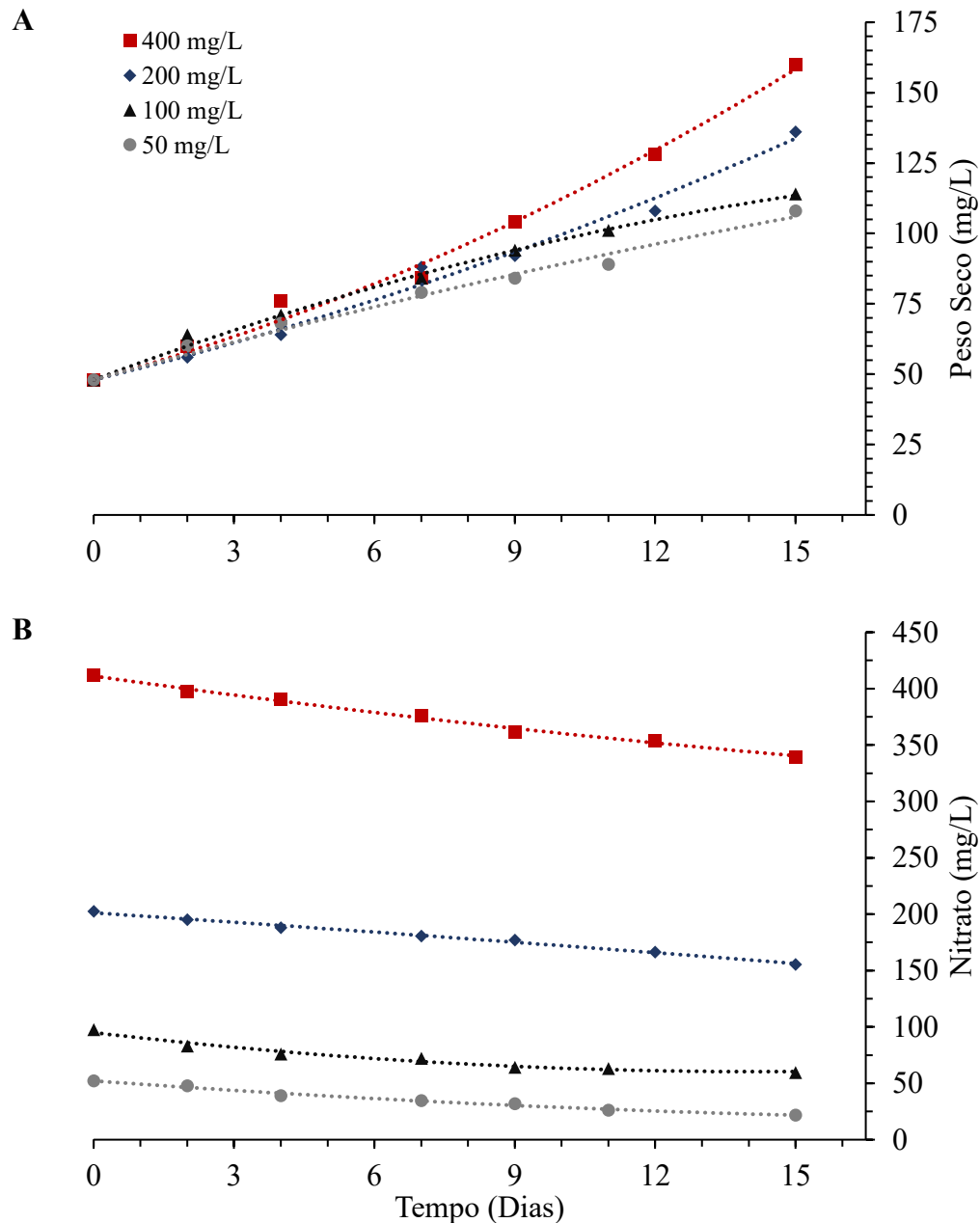
5.2. Etapa 2 (configuração 1) – diferentes concentrações de nitrato em efluente sintético e aeração superficial

Após a avaliação da intensidade luminosa e aeração superficial, estudou-se a concentração de nitrato para confirmar se realmente havia a necessidade de aeração forçada para conseguir a performance necessária na remoção de nitrato. Nesta etapa, utilizou-se efluente sintético, com duração total de 15 dias para o experimento com intensidade luminosa de 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{s})$ e concentrações de nitrato de 50, 100, 200 e 400 mg/L, ao mesmo tempo que uma concentração inicial de cerca de 30 mg de $\text{PO}_4^{3-} / \text{L}$ foi utilizada para todos os reatores.

Os resultados obtidos podem ser visualizados nas Figuras 20A e 20B, ficando evidente a incompatibilidade do sistema proposto quanto a remoção de nitrato em questão, sem nenhuma aeração no seio do líquido. Contudo, ao observar o apresentado na Figura 20B, quando a concentração de nitrato era em torno dos 50 mg/L, o sistema não aerado foi suficiente para reduzir o nível de nitrato a níveis aceitáveis pelo MS e OMS (abaixo de 45 mg/L, ou seja,

10mg/L de N em forma de nitrato) em 4 dias de experimento. Nessa etapa foram considerado valores de fosfato em excesso, para que este não limitasse a remoção, tendo sido iniciando com concentrações em torno de 30 mg/L, obtendo-se uma concentração final entre 22-28 mg/L nos experimentos.

Figura 20 - Crescimento microalgal (A) e remoção de nitrato (B) para diferentes concentrações de nitrato.



Fonte: AUTOR (2021).

A partir disso, uma pesquisa necessitou ser realizada para se comparar a relação área superficial/volume de meio de forma a verificar o porquê o sistema não é capaz de efetivamente

remover a concentração de nitrato fornecida. Na Tabela 6, um comparativo entre a relação área/volume de meio é mostrado, acompanhado dos % de remoção de alguns contaminantes.

É importante ressaltar que alguns dos estudos mostrados na Tabela 6 foram realizados em condições assépticas, utilizando como meio de cultura efluentes sanitários de digestores anaeróbios ou esgoto doméstico, consorciado ou não ao BG11. Além disso, é possível notar que a relação área superficial/volume do reator, tem um impacto na produtividade da biomassa. Como consequência, o desenvolvimento da biomassa influenciará a remoção de nutrientes, visto que a remoção (principalmente de N e P) decorre do crescimento da biomassa.

Percebe-se que valores aproximados entre 50-75 cm²/L foram mais efetivos na remoção dos contaminantes dos meios/efluentes utilizados. Para o estudo em questão, a relação foi em torno de 14 cm²/L justificando a inefetividade do sistema. Para ajuste do sistema, duas alternativas foram pensadas, ou aumentar a área superficial, ou fornecer melhores taxas de difusão de CO₂ através de aeração forçada. Em relação a aumentar a área superficial, isso significaria aumentar significativamente a área de tratamento, pois para cada 1m³ de efluente a ser tratado seriam necessários 5 m² de área superficial (quando 50 cm²/L são considerados), o que não foi considerado viável para aplicações em larga escala. Nesse caso, escolheu-se fornecer aeração forçada para avaliar se o sistema poderia funcionar adequadamente na mesma área utilizada anteriormente.

Tabela 6 – Relação área/volume na remoção de nutrientes e crescimento da biomassa de *Tetrademus obliquus* em sistemas em batelada com aeração superficial.

Meio Cultura	PPFD (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Dias	Produt. (mg/(L.dia))	Conc. Inicial (mg/L)			Remoção			Relação (cm ² /L)	Autor
				[NH ₄ ⁺]	[NO ₃ ⁻]	[PO ₄ ³⁻]	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻		
ED	97,5	24	151	300	-	6	78%	-	95%	55	Da Fontoura et. al. (2017)
EA	Natural	9	144	249	-	75	99%	-	95%	52	Shayesteh et al. (2021)
BG11 e ED	55	12	219	-	1046	314	-	99%	100%	73	Pandey, Srivastava e Kumar (2019)
BG11 modificado	100	15	8		52	28		58%	12%	14	Este estudo
			9		98	31		39%	11%		
			12	-	202	25	-	23%	16%		
			15		412	27		18%	19%		

PPFD – *Photosynthetic Photon Flux Density* (Intensidade Luminosa). EA: Efluente Anaeróbio; ED: Esgoto Doméstico.

Fonte: AUTOR (2021).

Complementando, a Tabela 6 traz resultados de experimentos que utilizaram meios de cultura sintéticos e aeração forçada, com ou sem (somente ar) suplementação de CO₂, obtendo resultados satisfatórios quanto ao percentual de remoção de compostos nitrogenados e fosfatos. Lizzul et al. (2014), utilizando *Chlorella sorokiniana*, conseguiram valores de remoção de 95% para nitrato (concentração inicial de 235 mg/L) e 57% para fosfatos (concentração inicial de 29 mg/L) em 4 dias, com uma taxa de aeração de 0,2 vvm (sendo 12% de CO₂) e intensidade luminosa de 80 μmol m⁻² s⁻¹.

Por outro lado, Vazirzadeh et al. (2021), alcançaram com *Chlorella vulgaris*, uma remoção de 85% para NO₃ (concentração inicial de 2322 mg/L) e 95% para PO₄ (concentração inicial de 38 mg/L), tendo BG11 como meio de cultura, luminosidade de 65 μmol m⁻² s⁻¹ e 13 dias de experimento. Ainda utilizando um sistema com a mesma espécie de microalga, De Farias Silva e Sforza (2016), removeram 92% do nitrato inicial (concentração inicial de 450 mg/L) em 8 dias, com uma intensidade luminosa de 150 μmol m⁻² s⁻¹, taxa de aeração de 0,5 vvm (sendo 5% CO₂).

Por fim, Ye et al. (2020), com *Scenedesmus* sp. em meio sintético, atingiram remoções de 99% de NH₃ (concentração inicial de 63 mg/L), 97% de NO₃ (concentração inicial de 2,2 mg/L) e 95% de PO₄ (concentração inicial de 42 mg/L) em oito dias com aeração sem suplementação de CO₂ (ar atmosférico) a uma taxa de 0,1 vvm, mostrando que utilizando o ar atmosférico é possível fazer essa remoção.

É verdade que o uso de aeração com CO₂ concentrado misturado ao ar atmosférico em concentrações de 2,5-12% (como mostrado na Tabela 6) possa fornecer uma taxa de crescimento celular maior e uma maior rapidez na remoção dos contaminantes. No entanto, o uso de CO₂ concentrado durante a aeração representa um aumento significativo de até 50% nos custos de cultivo (CHISTI, 2013; GRIS et al., 2014; DE FARIAS SILVA et al, 2016). Esses custos estão relacionados com aspectos tecnológicos de captura de CO₂, compressão, transporte, problemas temporários de armazenamento e perda de gás (CHI et al., 2011).

Revisando, o crescimento autótrofo de microrganismos fotossintéticos necessita de uma fonte inorgânica de carbono que pode ser fornecida por (1º) bombeando ar, (2º) bombeando ar com CO₂ concentrado (geralmente 5%) e (3º) utilizando formas salinas de bicarbonato. É verdade que a concentração de CO₂ em ar atmosférico é baixo, de 0,04% (v/v), no entanto, trabalhos têm demonstrado que é possível haver uma significativa remoção de nitrato utilizando

essa estratégia, dependendo do efluente e de suas características (YE et al., 2020; PANDEY; SRIVASTAVA; KUMAR, 2019; LIZZUL et al., 2014).

Nesse sentido, na próxima etapa, procurou-se inserir aeração forçada utilizando-se o bombeamento de ar atmosférico de forma a avaliar se haveria aumento da eficiência do sistema na remoção de nitrato.

5.3. Etapa 3 e 4 (configuração 2) – com aeração forçada e efluente sintético/real

Em consequência da baixa eficiência mostrada nos experimentos com aeração superficial, foi proposto a injeção de ar (a uma taxa de 0,5 vvm) para auxiliar no desenvolvimento da cultura e remoção de nitrato. Para tanto, realizou-se dois conjuntos de experimentos (com aeração forçada em paralelo com superficial), com o meio de cultura BG-11, contendo em torno de 100 mg/L de nitrato e 30 mg/L de fosfato (utilizando intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Os cultivos foram realizados por 9 dias, período no qual se verificou completa remoção de nitrato para o sistema aerado. Verificada eficiência de remoção utilizando o efluente sintético formulado a partir da composição básica do meio BG-11, se avançou para a análise do funcionamento do reator com amostras de água subterrânea real contaminada por nitrato proveniente de dois poços. Os experimentos foram realizados de forma similar a aqueles mencionados anteriormente (utilizando intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{s})$ com ar sendo injetado a 0,5 vvm). Os resultados das duas bateladas de experimentos serão apresentados a seguir

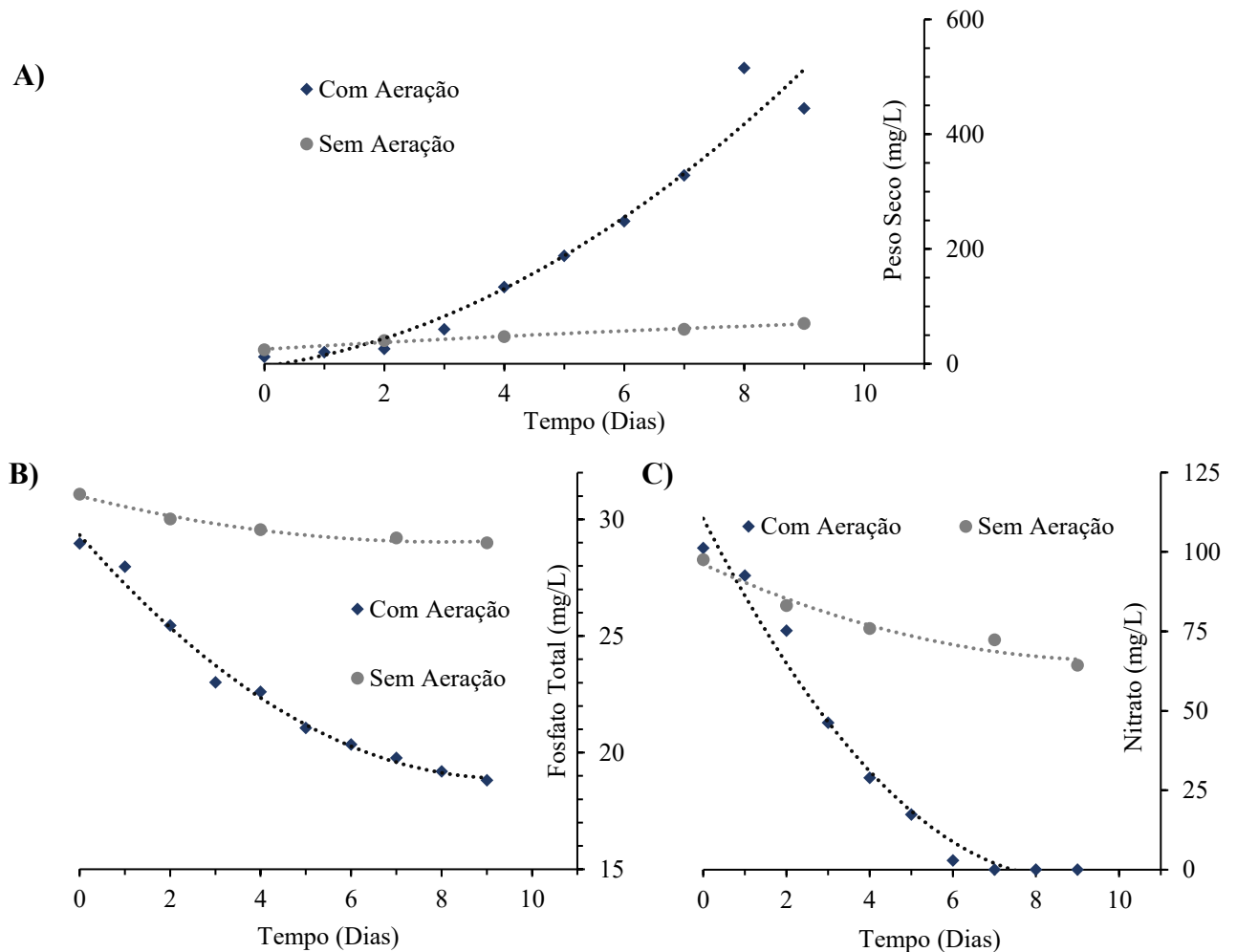
A adição de ar ao sistema amplia a disponibilidade de CO_2 na água, visto que o poder de dissolução do gás na água é incrementado em comparação ao modelo anterior. De fato, a influência do CO_2 em reatores de microalgas é amplamente estudada para diversos fins, e tempos de tratamento envolvem até 2 semanas (conforme visto na Tabela 6). Hosseini et al. (2015), que avaliaram a influência da suplementação gasosa de CO_2 para a produção de biomassa utilizando com meio de cultura BBM com injeção de ar e CO_2 em uma taxa de 0,5 vvm e 6% de CO_2 , ou por López-Pacheco et al. (2021) que analisaram a influência da injeção de CO_2 na remoção da DQO, utilizando efluente industrial associado ao meio de cultura BG11, taxa de aeração de 0,2 vvm (sendo 10% CO_2) e 15 dias de experimento.

Em contrapartida, Ye et al. (2020), utilizando somente a injeção de ar atmosférico, com uma taxa de 0,1 vvm, removeram em 8 dias 99% da amônia (concentração inicial de 63 mg/L), 97% do nitrato (concentração inicial de 2,2 mg/L) e 95% do fosfato total (concentração inicial de 42 mg/L) presentes em uma amostra sintética de esgoto doméstico. Vazirzadeh et al.

(2021), por sua vez, conseguiram taxas de remoção de 85% do nitrato (concentração inicial de 2322 mg/L) e 95% do fosfato (concentração inicial de 38 mg/L), sem utilizar a suplementação de CO₂ concentrado na injeção de ar, tais resultados foram obtidos com meio sintético BG-11 submetido a 13 dias de tratamento.

Através da Figura 21A é possível visualizar que o crescimento celular foi significativamente maior ao final de um pouco mais de uma semana de tratamento, passando de 70 mg/L para o sistema não aerado a quase 500 mg/L ao sistema aerado. Pelas Figuras 21B e 21C, percebe-se também que esse crescimento foi acompanhado de completa remoção de nitrato (100% em comparação a 34% para o não aerado) e significativa de fosfato (35% em comparação a 7% para o não aerado). É importante ressaltar que a concentração de fosfato foi mantida em excesso.

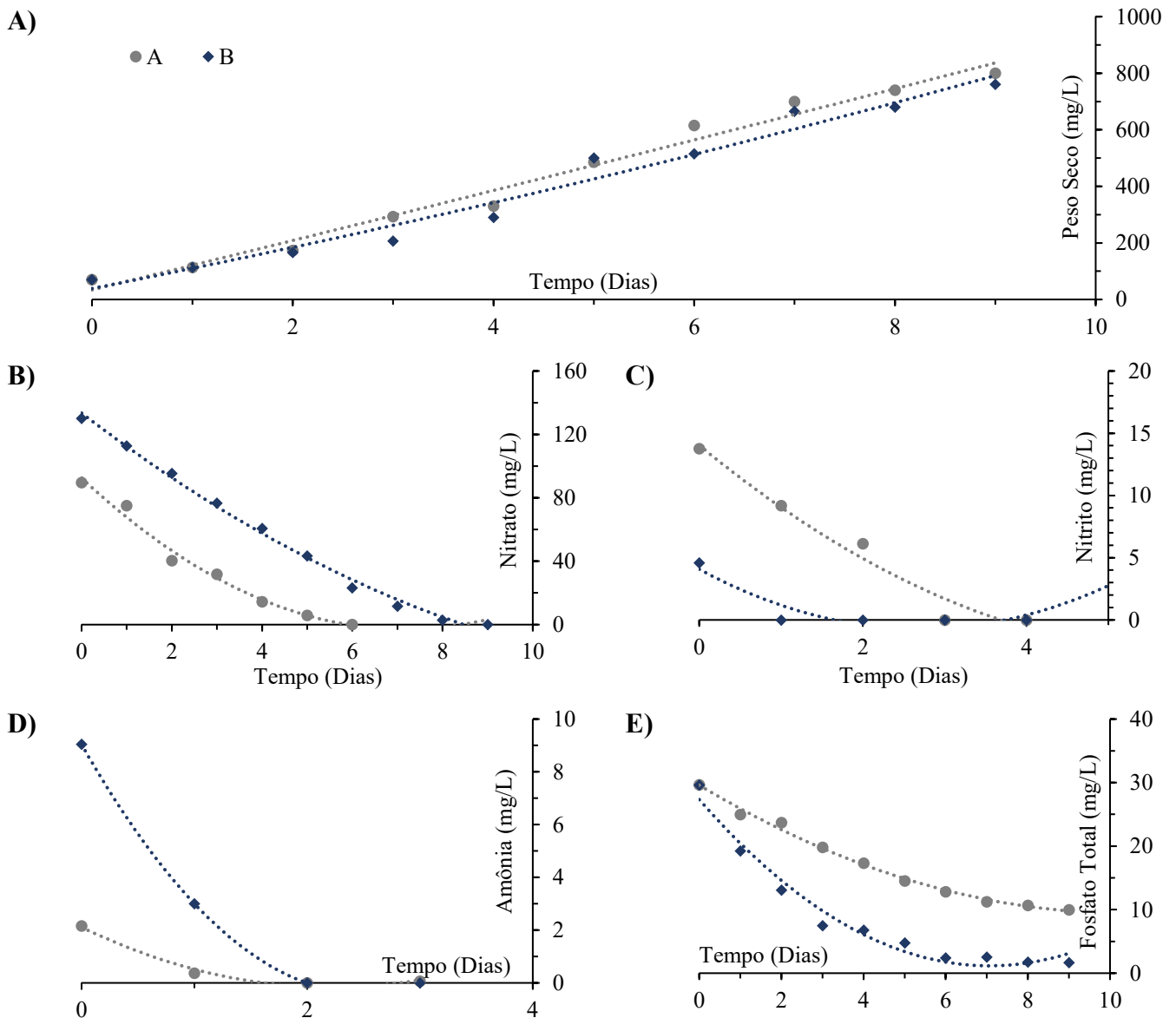
Figura 21 - Comparação de desempenho dos reatores com e sem aeração. A) Crescimento celular, B) Concentração de fosfato e C) Concentração de nitrato com o tempo de tratamento.



Fonte: AUTOR (2021).

Nos experimentos utilizando o efluente real, as concentrações iniciais de nitrato no momento da inoculação para o tratamento se situaram entre 90-130 mg/L com resquícios de amônia e nitrito, principalmente do poço A. A concentração de fosfato encontrada nos efluentes estavam entre 0,6-0,9 mg/L, muito baixo para a concentração de nitrato e necessitou ser suplementado. Como a intenção principal do estudo foi avaliar a remoção de nitrato, essa não poderia ser limitada pela concentração fosfato, que em conjunto com o carbono e nitrogênio formam os macronutrientes mais significativos no cultivo microalgal (MARKOU et al., 2014). Nesse sentido, a concentração de fosfato foi estabelecida em 30 mg/L, baseando-se nos experimentos precedentes. Os resultados são apresentados na Figura 22.

Figura 22 – Análise dos experimentos realizados com efluente subterrâneo real. A) Crescimento celular, B) Concentração de nitrato, C) nitrito, D) amônia e E) fosfato total.



Fonte: AUTOR (2021).

De acordo com a Figura 22A, o crescimento microalgal foi similar em ambos os experimentos, chegando a valores próximos de biomassa seca de 800 mg/L, com eficiente remoção de todas as formas de nitrogênio inorgânico (100%) em 8 dias de cultivo (Figura 22B), com nitrito e amônia sendo removidos nos primeiros 4 dias (Figura 22C e 22D). A concentração de fosfato total teve resíduo entre 2-10 mg/L (Figura 22E), mostrando que foi suficiente para a remoção das formas inorgânicas de nitrogênio, e que a suplementação poderia ser reduzida para uma concentração inicial de 20 mg/L.

Conforme pode ser observado no estudo conduzido por Pandey, Srivastava e Kumar (2019), *Scenedesmus* sp. em 12 dias removeu 99% do nitrato disponível (sob intensidade luminosa de $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aeração superficial, 12 dias de cultivo, com concentração inicial de 1046 mg de NO_3^-/L e 314 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$). Ji et al. (2020) utilizando *Scenedesmus obliquus* alcançaram uma remoção de 100% de nitrato em 7 dias (sob intensidade luminosa de $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aeração forçada, com concentração inicial de 0,5 mg de NH_4^+/L , 38 mg de NO_3^-/L e 5,2 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$). Deste modo, a eficiência na remoção de nutrientes em culturas de *Scenedesmus* sp. fica evidenciada para diferentes características de efluentes e configurações de sistema.

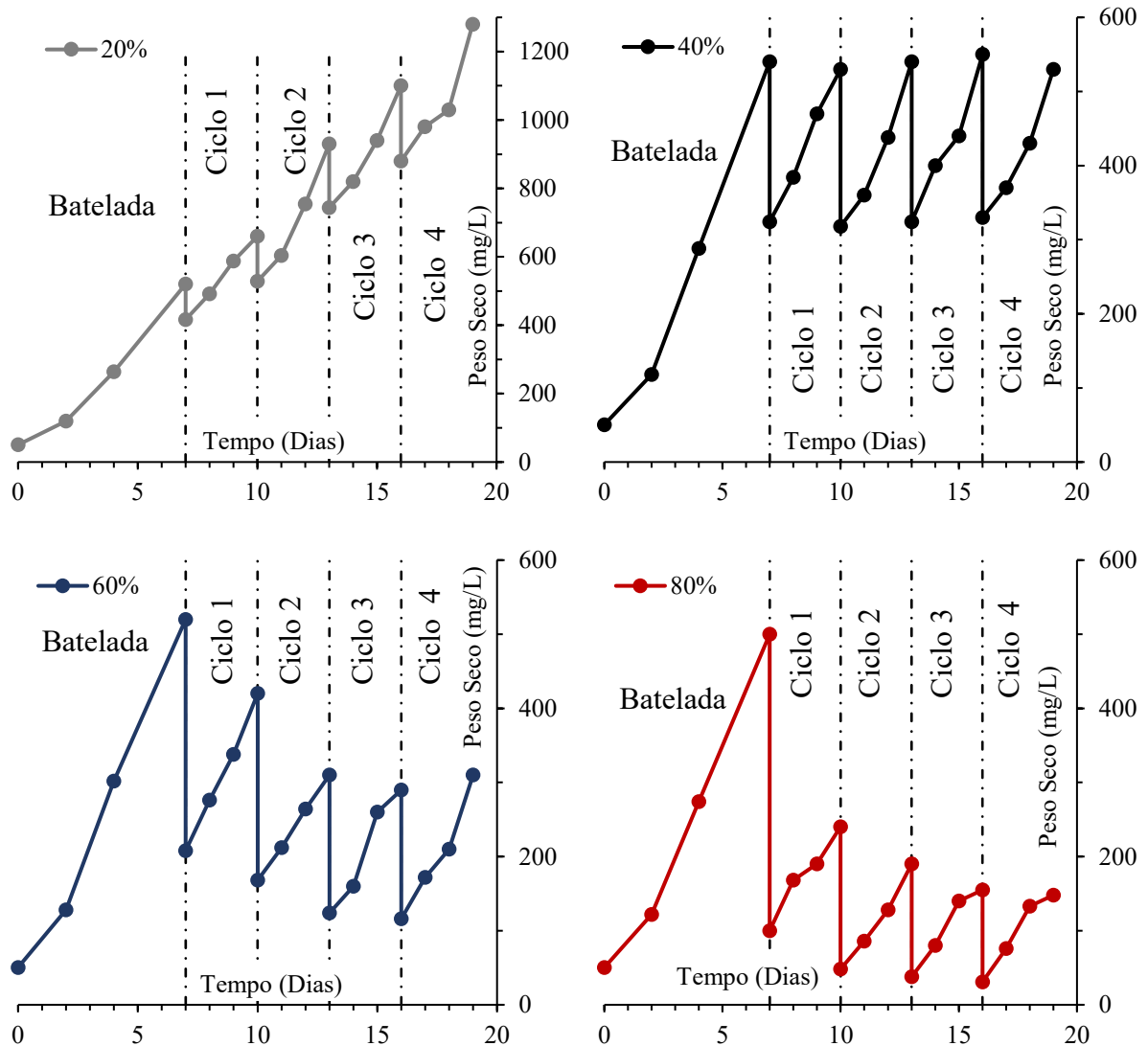
5.4. Etapa 5 (configuração 2) – efluente real em processo semicontínuo e aeração forçada

Procurando-se otimizar o tempo de tratamento com a economia de inóculo e verificando a estabilidade do sistema por mais ciclos foi utilizado um sistema semicontínuo utilizando diferentes taxas de reposição volumétrica. O sistema semicontínuo se caracteriza inicialmente por uma batelada normal, e depois há a remoção de uma quantidade de volume do reator sendo substituída por um volume igual do efluente a ser tratado. As condições experimentais foram as mesmas utilizadas nas Etapas 3 e 4 (injeção de ar a uma taxa de 0,5 vvm utilizando intensidade luminosa de $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e concentração de inóculo de 50 mg/L). Foram utilizadas taxas de reposição volumétrica de 20, 40, 60 e 80% (v/v).

Visto que o consumo de fosfato total de 20 mg/L foi suficiente para garantir a continuidade do processo de remoção do nitrogênio utilizando o efluente real, este foi o valor adotado nesta etapa, de forma a evitar resquício de fósforo na água tratada e uma consequente contaminação da água por isso. O tempo de retirada e reposição dos volumes foi fixado em 3 dias (cerca de metade do tempo do processo em batelada que foi de 7 dias), com 4 ciclos de 3 dias, sendo no total os reatores operados por 19 dias.

Em relação a produção de biomassa, percebe-se que a taxa de reposição de 20% não houve estabilidade do sistema, provavelmente, porque 3 dias para uma reposição de 20% se mostrou excessiva. Por outro lado, para taxas de 40, 60 e 80% (que são mais interessantes também pelo fato de que se consegue tratar um maior volume de efluente), o sistema a partir do 1º/2º ciclo se mostrou bastante estável, embora a diluição realizada a 60/80% do volume do reator diminuiu consideravelmente a produção de biomassa. A Figura 23 traz o crescimento da biomassa durante todo o experimento conduzido em regime semi-contínuo.

Figura 23 - Crescimento da biomassa no sistema semi-contínuo.



Fonte: AUTOR (2021).

É importante saber que a otimização desse sistema depende da combinação do crescimento da microalga com o volume a ser retirado/inserido no sistema de forma que haja

uma sinergia entre a produção de biomassa e remoção de nutrientes. Isso será melhor avaliado verificando-se os contaminantes analisados e suas taxas de remoção.

Pela Figura 24A, percebe-se que utilizando-se 80% de taxa de reposição não fornece a remoção necessária para baixar os limites sanitários de nitrato e de fosfato, portanto tal taxa não pode ser considerada. Por outro lado, taxas de 20 a 60% fornecem bons índices de tratamento para esses contaminantes. Em conjunto com os dados da Figura 24A, boa estabilidade se consegue utilizando 40-60% de taxa de reposição volumétrica. Em relação às concentrações de nitrito e amônia, não foram verificados dentro do limite analítico sua presença durante os ciclos do processo semicontínuo.

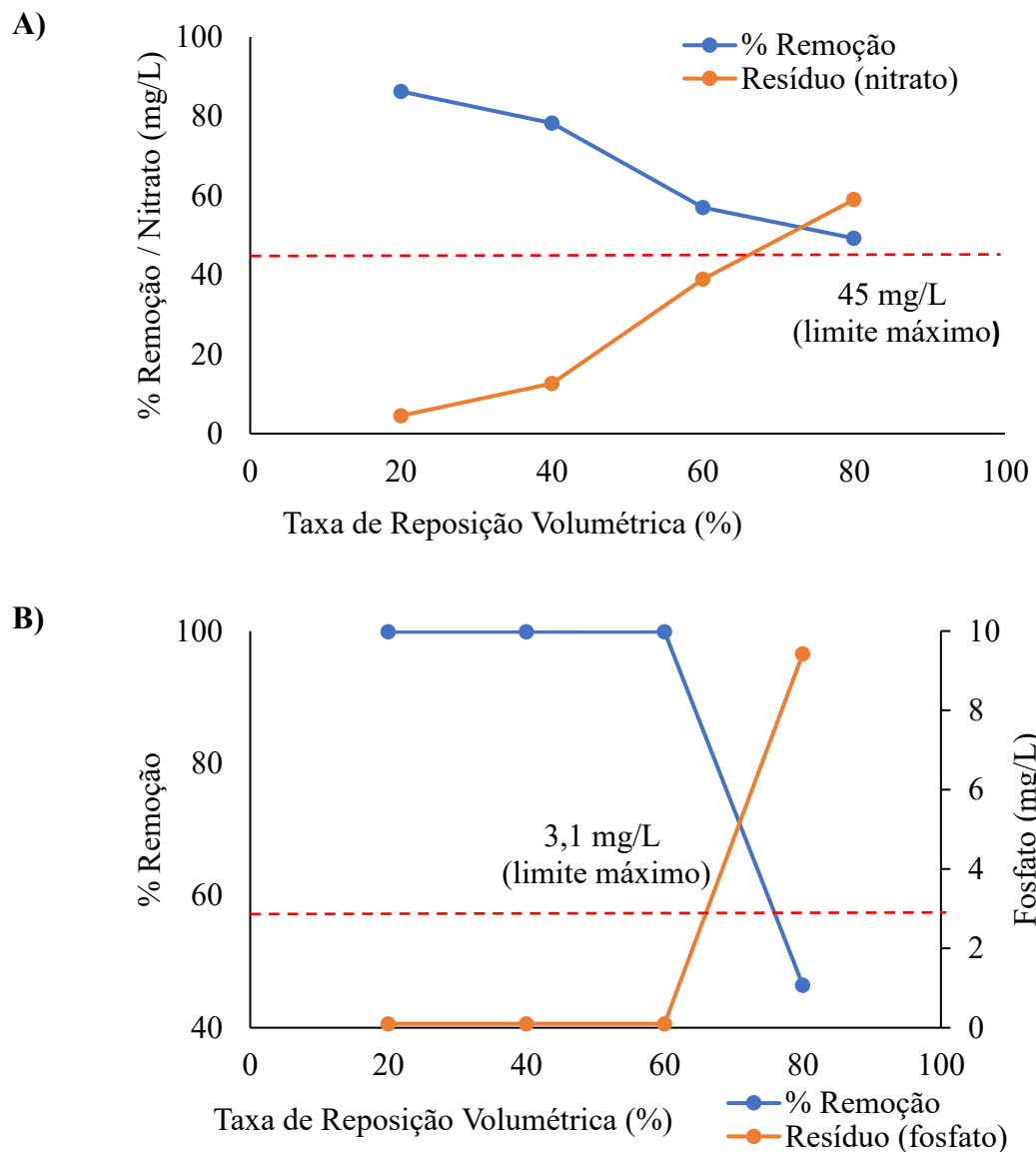
O processo semicontínuo para cultivo de microalgas e tratamento de efluentes vem ganhando força por várias vantagens: possibilidade de ser operado por longos períodos trocando-se apenas a taxa de reposição volumétrica, não necessita da adição de inóculo, as microalgas dentro do processo estão adaptadas e a eficiência do processo é baseada apenas em uma variável (volume inserido/removido), diminuição do tempo de cultivo (se comparado com uma batelada) e diminuição da complexidade operacional (se comparado ao contínuo) (HO et al., 2013; KHOO et al., 2016).

Ho et al. (2013) utilizando *Scenedesmus obliquus* CNW-N em processo semicontínuo encontraram em taxas de reposição entre 30-50% com intervalos de reposição 1,5-2,5 dias, melhores produtividades de biomassa e operou com estabilidades seis ciclos do processo. Em contrapartida, Voltovina et al. (1999), experimentaram um sistema com reposição diária de 50 e 30% do volume contido no reator, alcançando uma remoção de amônia de 79 e 73%, respectivamente. Entretanto, no melhor cenário de remoção, somente 37% do nitrato foi removido (aeração forçada que mantém a cultura suspensa por bolhas de ar e sem suplementação artificial de CO₂, 420 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 48,4 mg NH₄⁺/L e 52,4 mg NO₃⁻/L).

Ruiz-Marin, Mendoza-Espinosa e Stephenson (2010), estudaram o crescimento e remoção de nutrientes por *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris* em culturas em semi-contínua. Os resultados trazem uma média de 87% de remoção durante 4 ciclos de operação utilizando efluente urbano (esgoto) contendo 34-48 mg/L de N em forma de amônia e 4,2 mg/L de N em forma de nitrato (200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, agitados com células imobilizadas em alginato e aeração superficial, tempo de reposição volumétrica de 35 h).

Por fim, em um estudo conduzido por Samorì, Samorì e Pistocchi (2014) que avaliou o desempenho da microalga *Desmodesmus communis* na remoção de nutrientes, constatou que para as condições do experimento ($140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aeração forçada a 0,14 vvm, 2% de CO_2 -ar, 39,3 mg de NH_4^+/L e 7,3 mg de $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$) é possível remover 99% dos nutrientes em 5 dias, com reposição volumétrica de 67% do reator, ou em 3 dias de detenção hidráulica e 33% de reposição volumétrica do reator. Além disso, foi testado ainda o desempenho para 1,5 dias e reposição de 20% do reator, tendo esta última configuração removido somente 47% da amônia presente, contudo, removeu 99% do fosfato total presente.

Figura 24 – Remoção de A) nitrato e B) fosfato no sistema semicontínuo.



As concentrações iniciais para a batelada e para os 4 ciclos considerando 20, 40, 60 e 80% são respectivamente em mg/L: Para nitrato - $128,7 \pm 3,30$, $27,83 \pm 2,10$, $78,25 \pm 5,97$, $89,20 \pm 5,95$ e $111,73 \pm 4,58$. Para fosfato - $20,6 \pm 1,70$, $4,18 \pm 0,05$, $8,30 \pm 0,05$, $12,40 \pm 0,07$ e $17,48 \pm 0,97$.

Fonte: AUTOR (2021).

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho realizou um estudo de tratamento de água subterrânea contaminada por nitrato, nitrito e amônia, considerando a influência de fatores nutricionais e ambientais do processo. A utilização de microalgas para a remoção de nutrientes tem sido aplicada a distintos tipos de efluentes. Para o desenvolvimento saudável da cultura, diversos parâmetros devem ser avaliados. A influência da aeração sobre o processo foi verificada, mostrando que quando o reator é submetido a aeração superficial, o desempenho das microalgas quanto a remoção de nutrientes e o crescimento de sua biomassa é limitado. Por outro lado, com o fornecimento de aeração forçada com ar atmosférico foi possível remover eficientemente o nitrato presente no efluente sintético e no real.

Além disso, foi enfatizado que há a necessidade de se verificar os nutrientes presentes na água subterrânea de forma que nutrientes essenciais ao crescimento microalgal estejam presentes e não sejam fator limitante do crescimento microalgal. No presente trabalho, a concentração de fósforo (fosfato) foi um fator limitante, o que demandou sua suplementação quando utilizado efluente real, de modo que após o tratamento a concentração residual se manteve dentro dos parâmetros exigidos pela legislação. O tempo de tratamento em batelada variou entre 1-2 semanas. No entanto, com a implementação do sistema semicontínuo conseguiu-se tempos de reposição volumétrica de 3 dias e sem a necessidade de produção e adição de inóculo, mostrando que o sistema se mantém. As taxas de reposição volumétrica que mostraram maior estabilidade, sejam na produção de biomassa ou na remoção de nitrato e fosfato, se situaram entre 40-60% de reposição, mostrando também que baixas ou muito altas taxas de reposição não atendem a estabilidade requerida pelo sistema.

No que diz respeito as limitações da pesquisa, evidenciou-se nas etapas iniciais que somente a aeração superficial apresenta uma eficiência limitada na remoção dos contaminantes e crescimento da biomassa, para períodos de tratamento de até 15 dias. Como sugerem alguns outros estudos apresentados, a relação área superficial/volume do reator pode ser um ponto de interesse para futuros estudos que visem evitar a utilização da aeração forçada. Por fim, como complemento para as problemáticas e limitações observadas neste estudo, sugere-se para trabalhos futuros o desenvolvimento de pesquisas para ampliação de escala do reator semicontínuo apresentado, para a otimização de outros micro e macronutrientes essenciais ao desenvolvimento microalgal, assim como o estudo da influência da relação entre área superficial e volume do reator na remoção de contaminantes.

REFERÊNCIAS

- ABE, K.; IMAMAKI, A.; HIRANO, M. Removal of nitrate, nitrite, ammonium and phosphate ions from water by the aerial microalga *Trentepohlia aurea*. **Journal of Applied Phycology**, v. 14, n. 2, p. 129–134, 2002.
- ABNT (Brasil). Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14724: Informação e documentação — Trabalhos acadêmicos — Apresentação**. Rio de Janeiro, 15 p., 2011. Disponível em: http://site.ufvjm.edu.br/revistamultidisciplinar/files/2011/09/NBR_14724_atualizada_abr_2011.pdf. Acesso em: 03 jun. 2020.
- AL-ZREIQAT, I.; ABBASSI, B.; HEADLEY, T.; NIVALA, J.; VAN AFFERDEN, M.; MÜLLER, R. A. Influence of septic tank attached growth media on total nitrogen removal in a recirculating vertical flow constructed wetland for treatment of domestic wastewater. **Ecological Engineering**, [s.l.], v. 118, p. 171-178, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.05.013>.
- ALASWAD, A.; DASSISTI, M.; PRESCOTT, T.; OLABI, A.G. Technologies and developments of third generation biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 1446–1460, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.058>.
- ALMOMANI, F.; JUDD, S.; BHOSALE, R.R.; SHURAIR, M.; AL-JAML, K.; KHRAISHEH, M. Intergrated wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using spirulina platensis and mixed algal culture, **Process Safety and Environmental Protection**, fev. 2019. IChemE. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.02.009>
- ALVA, M. S.; PABELLO, V. M. L.; LEDESMA, M. T. O.; GÓMEZ, M. J. C. Carbon, nitrogen, and phosphorus removal, and lipid production by three saline microalgae grown in synthetic wastewater irradiated with different photon fluxes. **Algal Research**, [s.l.], v. 34, p. 97-103, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.006>.
- ALVES, R. S.; MELO, J. G.; SILVA, C. T. X. L.; OLIVEIRA, C. C. C. Recursos hídricos subterrâneos da região de Parnamirim, RN: uso das águas e potencialidades. **Águas Subterrâneas**, [s.l.], v. 30, n. 1, p. 37, 22 mar. 2016. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/ras.v30i1.28486>.
- AMINI, M.; AMINI KHOEI, Z.; ERFANIFAR, E. Nitrate (NO₃⁻) and phosphate (PO₄³⁻) removal from aqueous solutions by microalgae *Dunaliella salina*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 19, n. 3, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101097>.
- ANA. Água da região metropolitana de Natal está contaminada. **Agência Nacional de Águas**. Rio Grande do Norte. 15 mar. 2019. Disponível em: <https://www.ana.gov.br/noticias-antigas/agua-da-regiapso-metropolitana-de-natal-esta.2019-03-15.5989774542>. Acesso em: 03 jun. 2020.
- ANSARI, M. H.; PARSA, J. B. Removal of nitrate from water by conducting polyaniline via electrically switching ion exchange method in a dual cell reactor: optimizing and modeling. **Separation And Purification Technology**, [s.l.], v. 169, p. 158-170, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2016.06.013>.
- ANYANWU, R. C.; RODRIGUEZ, C.; DURRANT, A.; OLABI, A. G. Microalgae Cultivation Technologies. **Reference Module in Materials Science and Materials**

Engineering, p. 1–23, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.09258-4>

APHA. 5220 CHEMICAL OXYGEN DEMAND (COD). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23.ed. Washington, DC, 2018a. American Public Health Association. DOI: 10.2105/SMWW.2882.103

APHA. 4500-NO₃– NITROGEN (NITRATE). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23.ed. Washington, DC, 2018b. American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.089>

APHA. 4500-P PHOSPHORUS. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 23.ed. Washington, DC, 2018c. American Public Health Association. <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.093>

BELAY, A. Biology and Industrial Production of Arthrospira (Spirulina). **Handbook of Microalgal Culture: applied phycology and biotechnology** / edited by Amos Richmond and Qiang Hu. 2. ed., New Delhi, India, 2013. p. 339-358.

BELKADA, F. D.; KITOUS, O.; DROUCHE, N.; AOUDJ, S.; BOUCHELACHEM, Ouahiba; ABDI, N.; GRIB, H.; MAMERI, N. Electrodialysis for fluoride and nitrate removal from synthesized photovoltaic industry wastewater. **Separation And Purification Technology**, [s.l.], v. 204, p. 108-115, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2018.04.068>.

BOROWITZKA, M. A. Dunaliella: Biology, Production, and Markets. **Handbook of Microalgal Culture: applied phycology and biotechnology** / edited by Amos Richmond and Qiang Hu. 2. ed., New Delhi, India, 2013. p. 339-358.

BRASIL. Lei nº 9433, de 8 de janeiro de 1997. Institui a Política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos. **Política Nacional de Recursos Hídricos**. Brasília, 9 jan. 1997. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9433.htm. Acesso em: 03 jun. 2020.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento – SNS. **Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto: Visão Geral – ano de referência 2020**. Brasília: SNS/MDR, 2021. 88 p.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017. **Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde**. Ministério da Saúde, p. 926, 2017.

BRASIL. Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021. **Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>

BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Resolução Conama 357/05**. Brasília, 18 mar. 2005. Disponível em: < <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459> >. Acesso em: 3 jun. 2020.

BROWN, R. M.; MCCLELLAND, N. I.; DEININGER, R. A.; O'CONNOR, M. F. A Water Quality Index -Crashing the Psychological Barrier. **Indicators Of Environmental Quality**, [s.l.], p. 173-182, 1972. Springer US. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-1698-5_15.

BURT, T. P. Nitrogen Cycle. **Encyclopedia Of Ecology**, [s.l.], p. 135-142, 2013. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.00944-1>.

BUTLER, A. Nitrites and nitrates in the human diet: carcinogens or beneficial hypotensive agents?. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 167, p. 105-107, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.040>.

CABELLO, P.; LUQUE-ALMAGRO, V. M.; ROLDÁN, M. D.; MORENO-VIVIÁN, C. Nitrogen cycle. **Encyclopedia of Microbiology**, n. May, p. 301–310, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.20706-1>.

CETESB (São Paulo). **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2017**. São Paulo: Yelow Design, 2018. 303 p. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2018/06/Relat%C3%B3rio-de-Qualidade-das-%C3%81guas-Interiores-no-Estado-de-S%C3%A3o-Paulo-2017.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2020.

CHAIWONG, C; KOOTTATEP, T; POLPRASERT, C. Comparative study on attached-growth photobioreactors under blue and red lights for treatment of septic tank effluent. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 260, p. 110134, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110134>.

CHISTI, Y. Constraints to commercialization of algal fuels. **Journal of Biotechnology**, v. 167, p. 201–214, Set. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2013.07.020

CHI, Z.; O'FALLON, J. V.; CHEN, S. Bicarbonate produced from carbon capture for algae culture. **Trends in Biotechnology**, vol. 29(11), p. 537–541, jul. 2011 <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.006>

DA 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**, [s.l.], v. 111, p. 355-362, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2017.07.024>.

DECKER, E. L.; RESKI, R. Current achievements in the production of complex biopharmaceuticals with moss bioreactors. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 31, n. 1, p. 3–9, ago. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-007-0151-y>.

DE FARIAS SILVA, C. E.; SFORZA, E. Carbohydrate productivity in continuous reactor under nitrogen limitation: Effect of light and residence time on nutrient uptake in *Chlorella vulgaris*. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 12, p. 2112–2118, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.09.015>.

DE FARIAS SILVA, C. E.; SFORZA, E.; BERTUCCO, A. Stability of carbohydrate production in continuous microalgal cultivation under nitrogen limitation: effect of irradiation regime and intensity on *Scenedesmus obliquus*. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 261–270, 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-017-1252-x>.

DE OLIVEIRA, A. M.; TOLEDO, P. H. O.; FREIRE, C. C.; GOMES, M. G.; BUARQUE, A. C. S. Análise do avanço da cunha salina em sistema aquífero costeiro. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, [s.l.], v. 23, n. 5, p. 939-950, out. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-41522018167251>.

EEA. (org.). Nitrate in groundwater in Europe. **European Environmental Agency**. 2019. Disponível em: < https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/daviz/groundwater-nitrate-3#tab-chart_1_filters=%7B%22rowFilters%22%3A%7B%7D%3B%22columnFilters%22%3A%7B%22pre_config_country%22%3A%5B%22Europe%22%5D%7D%7D >. Acesso em: 19 novembro 2021.

EPSZTEIN, R.; NIR, O.; LAHAV, O.; GREEN, M. Selective nitrate removal from groundwater using a hybrid nanofiltration–reverse osmosis filtration scheme. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 279, p. 372-378, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.05.010>.

FAN, A. M. Nitrate. **Encyclopedia Of Toxicology**, [s.l.], p. 523-527, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-386454-3.01067-8>.

FAN, A. M. Health, Exposure and Regulatory Implications of Nitrate and Nitrite in Drinking Water. **Encyclopedia Of Environmental Health**, [s.l.], p. 417-435, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11837-8>.

GAZETA DE ALAGOAS (Maceió). Casal diz que poços cavados no bairro estão fora de operação. **Gazeta de Alagoas**. Maceió, 26 jan. 2019. Cidades. Disponível em: <https://gazetaweb.globo.com/gazetadealagoas/noticia.php?c=333157>. Acesso em: 03 jun. 2020.

GLOBAL MONITORING LABORATORY (Usa). National Oceanic And Atmospheric Administration. **Trends in Atmospheric Carbon Dioxide**: recent daily average mauna loa co2. Recent Daily Average Mauna Loa CO2. 2021. Disponível em: <https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/monthly.html>. Acesso em: 19 out. 2021.

GRIS, B.; SFORZA, E.; VECCHIATO, L.; BERTUCCO, A. Development of a process for an efficient exploitation of CO2 captured from flue gases as liquid carbonates for *Chlorella protothecoides* cultivation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, vol. 53, p. 16678–16688, out. 2014. American Chemical Society. <http://dx.doi.org/10.1021/ie502336d>

GROBBELAAR, J. U. Inorganic Algal Nutrition. **Handbook of Microalgal Culture: applied phycology and biotechnology** / edited by Amos Richmond and Qiang Hu. 2. ed., New Delhi, India, 2013. p. 123-133.

HANNA INSTRUMENTS. HI 93728 Nitrate ISM. **Instruction Manual**. Itália, Hanna Instruments Srl, 1998a.

HANNA INSTRUMENTS. HI 93715 Ammonia High Range ISM. **Instruction Manual**. Itália, Hanna Instruments Srl, 1998b.

HAU, M.; WIKELSKI, M.; WINGFIELD, J. C. (1998). A neotropical forest bird can measure the slight changes in tropical photoperiod. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 265(1391), p. 89–95. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0268>

HIRATA, R.; SUHOGUSOFF, A. V. How much do we know about the groundwater quality and its impact on Brazilian society today? **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, n. ii, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2179-975x4419>.

HO, S. H.; CHEN, C. Y.; CHANG, J. S. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO2 fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 113, p. 244-252, jun. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.133>.

HO, S.; LI, P.; LIU, C.; CHANG, J. Bioprocess development on microalgae-based CO₂ fixation and bioethanol production using *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, vol. 145, 142–149, out. 2013. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.119>

HOSSEINI, N. S.; SHANG, H.; ROSS, G. M.; SCOTT, J. A. Microalgae cultivation in a novel top-lit gas-lift open bioreactor. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 192, p. 432-440, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.092>.

HOSSEINI, N.; SHANG, H.; SCOTT, J. A. Biosequestration of industrial off-gas CO₂ for enhanced lipid productivity in open microalgae cultivation systems. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, n. February 2017, p. 458–469, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.086>.

HUANG, J.; KANKANAMGE, N. R.; CHOW, C.; WELSH, D. T.; LI, T.; TEASDALE, P. R. Removing ammonium from water and wastewater using cost-effective adsorbents: a review. **Journal Of Environmental Sciences**, [s.l.], v. 63, p. 174-197, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2017.09.009>.

HU, Q. Environmental Effects on Cell Composition. **Handbook of Microalgal Culture: applied phycology and biotechnology** / edited by Amos Richmond and Qiang Hu. 2. ed., New Delhi, India, 2013. p. 114-122.

IMCHUEN, N.; LUBPHOO, Y.; CHYAN, J.; PADUNGTHON, S.; LIAO, C. Using cation exchange resin for ammonium removal as part of sequential process for nitrate reduction by nanoiron. **Sustainable Environment Research**, [s.l.], v. 26, n. 4, p. 156-160, jul. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.serj.2016.01.002>.

JENSEN, V.B.; DARBY, J.L.; SEIDEL, C.; GORMAN, C. Drinking Water Treatment for Nitrate. Technical Report 6 in: Addressing Nitrate in California's Drinking Water with a Focus on Tulare Lake Basin and Salinas Valley Groundwater. Report for the State Water Resources Control Board Report to the Legislature. **Center for Watershed Sciences**. University of California, Davis. p. 1–198, 2012.

JI, M.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; KIM, S.; SALAMA, E.; KABRA, A. N.; LEE, Y.; HONG, S.; JEON, B. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. **Ecological Engineering**, v. 58, 142-148, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.020>.

JOHNSON, S. F. Methemoglobinemia: Infants at risk. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, v. 49, n. 3, p. 57–67, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cppeds.2019.03.002>.

KAR, A.; BAHADUR, V. Using excess natural gas for reverse osmosis-based flowback water treatment in US shale fields. **Energy**, [s.l.], v. 196, p. 117145, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.energy.2020.117145>.

KARL, D. M.; MICHAELS, A. F. Nitrogen Cycle. **Encyclopedia Of Ocean Sciences**, [s.l.], 3 ed., p. 408-417, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11608-2>.

KHOO, C. G.; LAM, M. K.; LEE, K. T. Pilot-scale semi-continuous cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* in bubble column photobioreactor (BC-PBR): hydrodynamics and gas-liquid mass transfer study. **Algal Research**, [s.l.], v. 15, p. 65-76, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.001>.

- KIM, S.; PARK, J.; CHO, Y.; HWANG, S. Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 144, p. 8-13, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.068>.
- KOLLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal Research**, v. 6, n. PA, p. 52–63, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2014.09.002>.
- KUMAR, A.; BERA, S. Revisiting nitrogen utilization in algae: a review on the process of regulation and assimilation. **Bioresource Technology Reports**, [S.L.], v. 12, p. 100584, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100584>.
- LAAMANEN, C.; SHANG, H.; ROSS, G.; SCOTT, J. A model for utilizing industrial off-gas to support microalgae cultivation for biodiesel in cold climates. **Energy Conversion and Management**, [s.l.], v. 88, p. 476-483, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2014.08.047>.
- LABARCA, F.; BÓRQUEZ, R. Comparative study of nanofiltration and ion exchange for nitrate reduction in the presence of chloride and iron in groundwater. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 723, p. 137809, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137809>.
- LEE, C.; HAMM, S.; CHEONG, J.; KIM, K.; YOON, H.; KIM, M.; KIM, J. Contribution of nitrate-nitrogen concentration in groundwater to stream water in an agricultural head watershed. **Environmental Research**, [s.l.], v. 184, p. 109313, 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2020.109313>.
- LI, D.; XU, X.; LI, Z.; WANG, T.; WANG, C. Detection methods of ammonia nitrogen in water: a review. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 127, p. 115890, jun. 2020a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2020.115890>.
- LI, T.; YANG, F.; XU, J.; WU, H.; MO, J.; DAI, L.; XIANG, W. Evaluating differences in growth, photosynthetic efficiency, and transcriptome of *Asterarcys* sp. SCS-1881 under autotrophic, mixotrophic, and heterotrophic culturing conditions. **Algal Research**, [s.l.], v. 45, p. 101753, jan. 2020b. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2019.101753>.
- LIZZUL, A. M.; HELLIER, P.; PURTON, S.; BAGANZ, F.; LADOMMATOS, N.; CAMPOS, L. Combined remediation and lipid production using *Chlorella sorokiniana* grown on wastewater and exhaust gases. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 151, p. 12-18, 2014. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.040>.
- LÓPEZ-PACHECO, Y.; CASTILLO-VACAS, E.; CASTAÑEDA-HERNÁNDEZ, L.; GRADIZ-MENJIVAR, A.; RODAS-ZULUAGA, L.; CASTILLO-ZACARÍAS, C.; SOSA-HERNÁNDEZ, J.; BARCELÓ, D.; IQBAL, H.; PARRA-SALDÍVAR, R. CO₂ biocapture by *Scenedesmus* sp. grown in industrial wastewater. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 790, p. 148222, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148222>.
- MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLEAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: the supply of nutrients. **Water Research**, vol.65, 186–202, nov. 2014. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.025>
- MARONEZE, M. M.; SIQUEIRA, S. F.; VENDRUSCOLO, R. G.; WAGNER, R.; MENEZES, C. R.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. The role of photoperiods on

- photobioreactors – A potential strategy to reduce costs. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 219, p. 493-499, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.003>.
- MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G. Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. **Encyclopedia of Ecology, Five-Volume Set**, p. 2226–2235, 2008. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-008045405-4.00830-2>.
- MOSIER, A. R.; BLEKEN, M. A.; CHAIWANAKUPT, P.; ELLIS, E. C.; FRENEY, J. R.; HOWARTH, R. B.; MATSON, P. A.; MINAMI, K.; NAYLOR, R.; WEEKS, K. N.; ZHU, Z. L. Policy implications of human-accelerated nitrogen cycling. The nitrogen cycle at regional to global scales **Biogeochemistry**, V. 57/58, p. 477-516, 2002.
- NAYAK, M.; KAREMORE, A.; SEN, R. Performance evaluation of microalgae for concomitant wastewater bioremediation, CO₂ biofixation and lipid biosynthesis for biodiesel application. **Algal Research**, [s.l.], v. 16, p. 216-223, jan. 2016a. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.020>.
- NAYAK, M.; KAREMORE, A.; SEN, R. Sustainable valorization of fl ue gas CO₂ and wastewater for the production of microalgal biomass as a biofuel feedstock in closed and open reactor systems. **RSC Advances**, [s.l.], v. 6, set. 2016b. RCS Adv. DOI:10.1039/c6ra17899e.
- PALADINO, O.; NEVIANI, M. Scale-up of photo-bioreactors for microalgae cultivation by π -theorem. **Biochemical Engineering Journal**, v. 153, p. 107398, an. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2019.107398>.
- PANCHA, I.; CHOKSHI, K.; MAURYA, R.; TRIVEDI, K.; PATIDAR, S. K.; GHOSH, A.; MISHRA, S. Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus sp.* CCNM 1077. **Bioresource Technology**, v. 189, p. 341–348, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.017>.
- PANDEY, A.; SRIVASTAVA, S.; KUMAR, S. Sequential optimization of essential nutrients addition in simulated dairy effluent for improved *Scenedesmus sp* ASK22 growth, lipid production and nutrients removal. **Biomass and Bioenergy**, v. 128, n. February, p. 105319, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105319>.
- POFFENBARGER, H.; COYNE, M. S.; FRYE, W. W. Nitrogen in Soils/Cycle. **Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences** [s.l.] Elsevier Inc., 2013. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11470-8>.
- POSTEL, S. L.; DAILY, G. C.; EHRLICH, P. R. Human Appropriation of Renewable Fresh Water. **Science**, V. 271, p. 785-788, fev. 1996. American Association for the Advancement of Science. DOI:10.1126/science.271.5250.785.
- QIE, F.; ZHU, J.; RONG, J.; ZONG, B. Biological removal of nitrogen oxides by microalgae, a promising strategy from nitrogen oxides to protein production. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 292, p. 122037, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122037>.
- RAJA, R.; SHANMUGAM, H.; GANESAN, V.; CARVALHO, I. S. Biomass from Microalgae: An Overview. **Oceanography: Open Access**, v. 02, n. 01, p. 1–7, 2014. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2332-2632.1000118>.
- REN, M.; NING, P.; XU, J.; QU, G.; XIE, R. Concentration and treatment of ceric ammonium nitrate wastewater by integrated electro dialysis-vacuum membrane distillation process. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 351, p. 721-731, nov. 2018. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.155>.

RICHARDS, L. A.; VUACHÈRE, M.; SCHÄFER, A. I. Impact of pH on the removal of fluoride, nitrate and boron by nanofiltration/reverse osmosis. **Desalination**, v. 261, n. 3, p. 331–337, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2010.06.025>.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.J.B.W.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. **Microbiology-sgm**. [s.l.], v. 111, p. 1-61, 1979. DOI: 10.1099/00221287-111-1-1.

RIVEROS-PEREZ, E.; RIVEROS, R. Water in the human body: An anesthesiologist's perspective on the connection between physicochemical properties of water and physiologic relevance. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 26, p. 1–8, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amsu.2017.12.007>.

RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L. G.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 1, p. 58-64, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.076>.

SAHLI, M. A. M.; ANNOUAR, S.; MOUNTADAR, M.; SOUFIANE, A.; ELMIDAOU, A. Nitrate removal of brackish underground water by chemical adsorption and by electro dialysis. **Desalination**, [s.l.], v. 227, n. 1-3, p. 327-333, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2007.07.021>.

SAMORÌ, G.; SAMORÌ, C.; PISTOCCHI, R. Nutrient Removal Efficiency and Physiological Responses of *Desmodesmus communis* at Different HRTs and Nutrient Stress Condition Using Different Sources of Urban Wastewater Effluents. **Appl Biochem Biotechnol**, [s.l.], v. 173, p. 74-89, mar. 2014. Springer. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0792-7>.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL: volume 2 - engenharia bioquímica. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 2001. 179-245 p.

SFORZA, E.; GRIS, B.; DE FARIAS SILVA, C. E.; MOROSINOTTO, T.; BERTUCCO, A. Effects of Light on Cultivation of *Scenedesmus Obliquus* in Batch and Continuous Flat Plate Photobioreactor. **Chemical Engineering Transactions**, [s.l.], v. 38, 2014. AIDIC. DOI:10.3303/CET1438036

SHARP, R.; KHUNJAR, W.; DALY, D.; PEREZ-TERRERO, J.; CHANDRAN, K.; NIEMIEC, A.; PACE, G. Nitrogen removal from water resource recovery facilities using partial nitrification, denitrification-anaerobic ammonia oxidation (PANDA). **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 724, p. 138283, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138283>.

SHAYESTE, H.; VADIVELLOO, A.; BAHRI, P.; MOHEIMANI, N. Can CO₂ addition improve the tertiary treatment of anaerobically digested abattoir effluent (ADAE) by *Scenedesmus* sp. (Chlorophyta)? **Algal Research**, [S.L.], v. 58, p. 102379, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2021.102379>.

SHEN, Y.; HUANG, Y.; HU, J.; LI, P.; ZHANG, C.; LI, L.; XU, P.; ZHANG, J.; CHEN, X. The nitrogen reduction in eutrophic water column driven by *Microcystis* blooms. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 385, p. 121578, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121578>.

SILVA, J. M.; MELO, J. G.; MAZIVIERO, H. F.; SILVA, C. T. X. L. Hidroquímica das águas subterrâneas do Sistema Aquífero Barreiras na bacia do Rio Pirangi/RN. **Águas Subterrâneas**, [s.l.], v. 34, n. 1, p. 1-2, 20 mar. 2020. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/ras.v34i1.29785>.

SILVA, J. M.; MELO, J. G. DE; DINIZ FILHO, J. B. Mapeamento da vulnerabilidade à contaminação das águas subterrâneas do Sistema Aquífero Barreiras na Bacia no Rio Pirangi/RN utilizando os Métodos GOD, DRASTIC e IS. **Águas Subterrâneas**, v. 34, n. 1, p. 1–17, mar. 2020. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/ras.v34i1.29786>.

SI, Z.; SONG, X.; WANG, Y.; CAO, X.; WANG, Y.; ZHAO, Y.; GE, X.; SAND, W. Untangling the nitrate removal pathways for a constructed wetland- sponge iron coupled system and the impacts of sponge iron on a wetland ecosystem. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 393, p. 122407, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122407>.

SONG, M.; PEI, H. The growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* during batch mixotrophic/heterotrophic cultivation using xylose as a carbon source. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 525–531, set. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.020>.

SONMEZ, C.; ELCIN, E.; AKIN, D.; OKTEM, H. A.; YUCEL, M. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus sp.* for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 211, p. 422-428, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.125>.

SUBRAMANIAN, J. H.; KAGLIWAL, L.d.; SINGHAL, R. S. Preservatives Permitted Preservatives – Nitrites and Nitrates. *Encyclopedia Of Food Microbiology*, [s.l.], p. 92-98, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00267-6>.

SUVARNA, B.; SUNITHA, V.; REDDY, Y. S.; REDDY, N. R. Data health risk assessment of nitrate contamination in groundwater of rural region in the Yerraguntla Mandal, South India. **Data In Brief**, [s.l.], v. 30, p. 105374, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2020.105374>.

VAN BREDA, S. G.; MATHIJS, K.; SÁGI-KISS, V.; KUHNLE, G. G.; VEER, B.; JONES, R. R.; SINHA, R.; WARD, M. H.; KOK, T. M. Impact of high drinking water nitrate levels on the endogenous formation of apparent N-nitroso compounds in combination with meat intake in healthy volunteers. **Environmental Health**, [s.l.], v. 18, n. 1, 17 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12940-019-0525-z>.

VAN MAANEN, J M; WELLE, I J; HAGEMAN, G; DALLINGA, J W; MERTENS, P L; KLEINJANS, J C. Nitrate contamination of drinking water: relationship with hprt variant frequency in lymphocyte DNA and urinary excretion of n-nitrosamines. **Environmental Health Perspectives**, [s.l.], v. 104, n. 5, p. 522-528, maio 1996. Environmental Health Perspectives. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.96104522>.

VAZIRZADEH, A.; JAFARIFARD, K.; AJDARI, A.; CHISTI, Y. Removal of nitrate and phosphate from simulated agricultural runoff water by *Chlorella vulgaris*. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 802, p. 149988, ago. 2021. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149988>.

VOLTOLINA, D.; CORDERO, B.; NIEVES, M.; SOTO, L. P. Growth of *Scenedesmus sp.* In artificial wastewater. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 68, p. 265-268, jun. 1999. Elsevier

BV. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00150-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00150-3).

WANG, H.; ZHOU, W.; SHAO, H.; LIU, T. A comparative analysis of biomass and lipid content in five *Tribonema* sp. strains at autotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultivation. **Algal Research**, v. 24, n. February, p. 284–289, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.020>.

WARD, M. H.; BRENDER, J. D. Drinking Water Nitrate and Human Health. **Encyclopedia Of Environmental Health**, [s.l.], p. 173-186, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-409548-9.11245-x>.

WHO. **Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum**. Geneva: World Health Organization, 4 ed., 631 p, 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254637/9789241549950-eng.pdf;jsessionid=417F2E9657EAC8820117F38CA6A74DB9?sequence=1>. Acesso em: 03 jun. 2020.

XIN, L.; HONG-YING, H.; KE, G.; YING-XUE, S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 14, p. 5494-5500, jul. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016>.

XIN, L.; HONG-YING, H.; YU-PING, Z. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. under different cultivation temperature. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3098–3102, 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.055>.

YAN, Z.; ZHENG, X.; FAN, J.; ZHANG, Y.; WANG, S.; ZHANG, T.; SUN, Q.; HUANG, Y. China national water quality criteria for the protection of freshwater life: ammonia. **Chemosphere**, [s.l.], v. 251, p. 126379, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126379>.

YASUI, M. Water Biology in Human Body. **Comprehensive Biomedical Physics**, [s.l.], p. 83-89, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-53632-7.01007-8>.

YE, S.; GAO, L.; ZHAO, J.; AN, M.; WU, H.; LI, M. Simultaneous wastewater treatment and lipid production by *Scenedesmus* sp. HXY2. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 302, jan. 2020. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122903>.

YIN, Z.; ZHU, L.; LI, S.; HU, T.; CHU, R.; MO, F.; HU, D.; LIU, C.; LI, B. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, v. 301, p. 122804, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804>.

ZHOU, W.; LU, Q.; HAN, P.; LI, J. Microalgae Cultivation and Photobioreactor Design. **Microalgae Cultivation For Biofuels Production**, [s.l.], p. 31-50, 2020. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817536-1.00003-5>.