



MATHEUS QUINTÃO BRAGA

**DIFERENTES MISTURAS DE ESGOTO DOMÉSTICO E
EFLUENTE DE CABINE DE PINTURA: AVALIAÇÃO DA
SUPLEMENTAÇÃO DE CARBONO NO CULTIVO DE
MICROALGAS, POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO E
ACÚMULO DE CAROTENOIDES**

**LAVRAS - MG
2023**

MATHEUS QUINTÃO BRAGA

**DIFERENTES MISTURAS DE ESGOTO DOMÉSTICO E EFLUENTE DE CABINE
DE PINTURA: AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CARBONO NO CULTIVO
DE MICROALGAS, POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO E ACÚMULO DE
CAROTENOIDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, área de concentração em Saneamento e Geotecnia Ambiental, para a obtenção do título de Mestre.

Prof^a. Dr^a. Paula Peixoto Assemany
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Calijuri
Coorientadora

LAVRAS – MG
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Braga, Matheus Quintão.

Diferentes misturas de esgoto doméstico e efluente de cabine de pintura: avaliação da suplementação de carbono no cultivo de microalgas, potencial de biorremediação e acúmulo de carotenoides / Matheus Quintão Braga. - 2023.

131 p. : il.

Orientador(a): Paula Peixoto Assemany.

Coorientador(a): Maria Lúcia Calijuri.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Lagoas de alta taxa. 2. Efluente de indústria moveleira. 3. Recuperação de recursos. I. Assemany, Paula Peixoto. II. Calijuri, Maria Lúcia. III. Título.

MATHEUS QUINTÃO BRAGA

DIFERENTES MISTURAS DE ESGOTO DOMÉSTICO E EFLUENTE DE CABINE DE PINTURA: AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CARBONO NO CULTIVO DE MICROALGAS, POTENCIAL DE BIORREMEDIAÇÃO E ACÚMULO DE CAROTENOIDES

DIFFERENT MIXTURES OF DOMESTIC SEWAGE AND PAINT BOOTH EFFLUENT: EVALUATION OF CARBON SUPPLEMENTARION ON MICROALGAE CULTIVATION, BIOREMEDIATION POTENTIAL AND CAROTENOIDS ACCUMULATION

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, área de concentração em Saneamento e Geotecnia Ambiental, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 14 de fevereiro de 2023
Dr^a. Juliana Ferreira Lorentz – UFV
Dr. Mateus Pimentel de Matos – UFLA



Prof^a. Dr^a. Paula Peixoto Assemany
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Calijuri
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2023**

“Dedico este trabalho aos meus pais, José Maurício e Ana Cláudia. Esta dissertação é a prova de que todo seu carinho, cuidado, amor e dedicação valeram a pena.”

AGRADECIMENTOS

A elaboração da presente dissertação somente foi possível graças às mais variadas contribuições, sejam acadêmicas ou emocionais, que aqui descrevo e dedico meus sinceros agradecimentos.

Primeiramente, agradeço a Deus por essa vitória e força. É a realização de um sonho que está acontecendo.

Aos meus pais, Ana Cláudia e José Mauricio, por todo amor, confiança, carinho e sustento. Sem vocês essa jornada seria mais longa e com mais desafios.

Às minhas irmãs, Mariana e Maria Clara, por todos os momentos de energia e alegria. Vocês são minha fonte diária de força para seguir em frente.

Aos meus avós, Ricardo, Ana, Helis e Matinha (*in memoriam*), que mesmo sem entender o que me motivava a continuar estudando, foram fonte de entusiasmo.

À minha família, que sempre me apoiou, não importando o momento que eu passava, sendo suporte e amor.

Aos meus amigos de laboratório (e de vida), Iara, Alexia, Thiago, Arthur, Juliana, Jéssica, Vitor, Rafinha, Izabela e Laura. Vocês me motivaram e fizeram acreditar mais em mim, foram suporte e ponto de auxílio. Minha vida com vocês foi mais alegre e cheia de motivação. Obrigado por estarem comigo em todos os momentos.

Aos meus amigos e amores, Rodrigo, Ruzivia, Karina, Isabela, Amanda, Mariana Gomes, Maria Eduarda e Gabriella. Foi um prazer dividir estes dois anos com vocês, minha vida, meus sofrimentos, as festas, as vitórias e os momentos de superação. Sem vocês estes últimos anos seriam muito mais difíceis.

A todos os professores que fizeram parte da minha trajetória dentro da academia da Universidade Federal de Lavras. Em especial, à minha orientadora (e amiga) Prof^a Dr^a. Paula Assemany, você foi guia, amiga, orientadora, confidente e conselheira. Suas contribuições foram além, me fazendo crescer academicamente, como profissional e como pessoa. Me faltam palavras pra descrever o quão importante sua orientação me motivou. Siga neste caminho, você já é “sucesso” e será ainda mais. Tenho orgulho de ser seu primeiro orientado.

À minha coorientadora, Prof^a Dr^a Maria Lucia Calijuri. Suas contribuições também foram além da academia, obrigado por ser figura materna nestes últimos sete anos, me ensinando, motivando e fazendo acreditar em todo meu potencial.

Ao professor Mateus Matos e a Dr^a Juliana Lorentz, pelo aceite em participar da minha banca de defesa e por toda contribuição com o trabalho.

À Universidade Federal de Lavras, por me proporcionar acesso ao conhecimento científico necessário para realizar este sonho. Me fazendo crescer como profissional e pessoa.

Aos laboratórios SIGEOnPA e LESA, vinculados à Universidade Federal de Viçosa. Por ter acesso a equipamentos de qualidade, por me fazer conhecer pessoas de caráter científico maravilhosas e por ser uma segunda casa. Um agradecimento especial para Priscila, técnica laboratorial do LESA, você me ajudou em diversos momentos e foi fundamental para obtenção de meus resultados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAMB), por me proporcionar acesso a realização deste sonho. Por dispor de competência acadêmica e profissional. E por me apresentar a colegas incríveis como Livia e Laís (que já eram amigas dos tempos de UFV, e quem tive contato e prazer em dividir estes anos) e Marina (uma pessoa que chegou com tudo e me fez bem, foi um prazer te conhecer).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelos recursos financeiros providos, fundamental para a realização deste trabalho.

RESUMO GERAL

O efluente de cabine de pintura (ECP) gerado durante o processo de pintura e envernizamento dos móveis de madeira da indústria moveleira possui alto teor de sólidos suspensos e carbono orgânico em sua composição, baixos teores de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, além da presença de elementos químicos, como solventes aromáticos. Devido a estas características, o tratamento eficiente deste efluente se torna difícil, muitas vezes gerando grandes gastos às empresas. O presente estudo, dividido em três principais linhas de ação, teve como objetivos principais a avaliação do tratamento biológico do ECP em lagoas de alta taxa via ação das microalgas e o potencial acúmulo de carotenoides pela biomassa. Em primeiro momento foi avaliado o efeito de diferentes misturas de ECP com esgoto doméstico (ED) no crescimento algal e na produção de carotenoides totais pela biomassa produzida, sob condições de um meio de cultivo pobre em nutrientes e com a presença de compostos orgânicos voláteis. Observou-se que volumes de 25 e 50% de ECP no meio de cultivo geraram os maiores rendimentos de clorofila- α (3,0 e 2,3 mg/L, respectivamente), e que valores acima de 40% de ECP podem inibir o desenvolvimento das algas. Após a avaliação do crescimento algal e do potencial de produção de compostos de valor agregado, o presente estudo avaliou o desempenho de diferentes misturas entre ECP e ED no tratamento e produção de biomassa, buscando determinar a mistura ótima entre os efluentes, uma vez que o ECP pode atuar como fonte suplementar de carbono ao ED. As misturas foram: D1 (0% ECP, 100% ED), D2 (18,75% ECP, 81,25% ED), D3 (37,5% ECP, 62,5% ED), D4 (56,25% ECP, 43,75% ED) e D5 (75% ECP, 25% ED). A mistura D2 apresentou a melhor relação carbono, nitrogênio e fósforo, perfazendo a melhor produtividade primária e total (0,08 g chl- α /m².dia e 2,0 g sólidos voláteis/m².dia). Constatou-se que a inserção de ECP no meio afeta positivamente o desempenho da biorremediação, aumentando as eficiências de remoção dos compostos, como fósforo (remoção > 60%), nitrogênio (100% de remoção) e matéria orgânica (remoção > 50%). Além disso, a mistura D2 se destacou pela maior recuperação de nitrogênio via assimilação pela biomassa, chegando a 19% a mais em relação ao valor inicial. Por fim, a terceira linha de ação, objetivou averiguar o efeito do controle nutricional do meio de cultivo na produção e acúmulo de carotenoides pela biomassa de algas. Compostos como a luteína e o β -caroteno foram identificados na biomassa (máximos de 52,6 μ g/g e 1,21 μ g/g, respectivamente), sendo este acúmulo guiado pelas condições iniciais de cultivo. Em suma, conclui-se que é possível o tratamento do ECP via lagoa de alta taxa, e que, além do benefício ambiental gerado pelo tratamento há a possibilidade de geração de produtos de valor agregado, tornando mais atrativa a instalação de sistemas de tratamento pelas indústrias produtoras de ECP. Recomenda-se, em futuros estudos, a realização de experimentos sobre a melhora nas condições de cultivo para a produção de carotenoides específicos e de outros compostos de valor agregado.

Palavras-chave: Lagoas de alta taxa. Efluente da indústria moveleira. Tratamento biológico. Complementariedade nutricional. Recuperação de recursos. Pigmentos.

ABSTRACT

The paint booth effluent (PBE) generated during the painting and varnishing process of wooden furniture in the furniture industry has a high content of suspended solids and organic carbon in its composition, low levels of nutrients, such as nitrogen and phosphorus, in addition to the presence of chemical elements, such as aromatic solvents. Due to these characteristics, the efficient treatment of this effluent becomes difficult, often generating large expenses for companies. The present study, divided into three main lines of action, had as main objectives the evaluation of the biological treatment of PBE in high-rate algal ponds via the action of microalgae and the potential accumulation of carotenoids by the biomass. Firstly, the effect of different mixtures of PBE with domestic sewage (DS) on algal growth and on the production of total carotenoids from the biomass produced, under conditions of a culture medium poor in nutrients and with the presence of volatile organic compounds, was evaluated. It was observed that volumes of 25 and 50% of PBE in the culture medium generated the highest yields of chlorophyll- α (3.0 and 2.3 mg/L, respectively), and that values above 40% of PBE can inhibit the development of algae. After evaluating the algal growth and the potential production of value-added compounds, the present study evaluated the performance of different mixtures between PBE and DS in the treatment and production of biomass, seeking to determine the optimal mixture between the effluents, since the PBE can act as a supplemental source of carbon to DS. The mixtures were: D1 (0% PBE, 100% DS), D2 (18.75% PBE, 81.25% DS), D3 (37.5% PBE, 62.5% DS), D4 (56.25 % PBE, 43.75% DS) and D5 (75% PBE, 25% DS). Mixture D2 showed the best carbon, nitrogen and phosphorus ratio, resulting in the best primary and total productivity (0.08 g chl- α /m².day and 2.0 g volatile solids/m².day). It was found that the insertion of PBE in the medium positively affects the bioremediation performance, increasing the efficiencies of removal of compounds such as phosphorus (removal > 60%), nitrogen (100% removal) and organic matter (removal > 50%). In addition, the D2 mixture stood out for the greater recovery of nitrogen via assimilation by the biomass, reaching 19% more than the initial value. Finally, the third line of action aimed to investigate the effect of the nutritional control of the culture medium on the production and accumulation of carotenoids by the algae biomass. Compounds such as lutein and β -carotene were identified in the biomass (maximum 52.6 μ g/g and 1.21 μ g/g, respectively), and this accumulation was guided by the initial cultivation conditions. In short, it is concluded that it is possible to treat PBE via a high-rate algal pond, and that, in addition to the environmental benefit generated by the treatment, there is the possibility of generating value-added products, making the installation of treatment systems more attractive by PBE producing industries. It is recommended, in future studies, the performance of experiments on the improvement of cultivation conditions for the production of specific carotenoids and other value-added compounds.

Keywords: High-rate algal ponds. Effluent from the furniture industry. Biological treatment. Nutritional complementarity. Resource recovery. Pigments.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO GERAL	13
PRIMEIRA PARTE	15
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral.....	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. HIPÓTESES	18
4. REFERENCIAL TEÓRICO	18
4.1. Geração de efluentes industriais	18
4.1.1. Efluente de cabine de pintura	19
4.2. Microalgas como agentes de tratamento	21
4.2.1. Principais características	21
4.2.2. Sistemas de cultivo	21
4.2.3. Fatores de estímulo	22
4.2.4. Biorremediação de efluentes com microalgas.....	26
4.2.5. Misturas de efluentes como meio de cultivo.....	29
4.3. Cultivo de microalgas em solventes.....	30
4.4. Produtos de valor agregado.....	31
4.4.1. Produção de carotenoides em microalgas	32
5. REFERÊNCIAS.....	34
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS	44
ARTIGO 1 – DIFFERENT MIXTURES OF PAINT BOOTH EFFLUENT AND DOMESTIC SEWAGE: EFFECTS ON ALGAL GROWTH AND CAROTENOID PRODUCTION	44
ABSTRACT.....	44
GRAPHICAL ABSTRACT	45
HIGHLIGHTS	45
1 - INTRODUCTION.....	45
2 - MATERIAL AND METHODS.....	47
2.1 – Effluents	47
2.2 – Experimental unit and blending design	48
2.3- Experiment monitoring	49
2.4- Statistical analysis.....	49
3 - RESULTS AND DISCUSSION.....	50
3.1- Effluent’s characterization	50
3.2- Influence of mixture treatments on algal growth	50
3.3- Microalgae community	60
4 - CONCLUSIONS	62
5 - REFERENCES.....	62
6 - SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	67

ARTIGO 2 – CARBON SUPPLEMENTATION IN DOMESTIC SEWAGE VIA MIXING WITH PAINT BOOTH EFFLUENT: INFLUENCE ON THE PERFORMANCE OF BIOREMEDIATION AND ALGAL BIOMASS PRODUCTION FROM HIGH-RATE ALGAL PONDS..... 68

ABSTRACT.....	68
GRAPHICAL ABSTRACT	69
HIGHLIGHTS	69
1 - INTRODUCTION.....	69
2 - MATERIAL AND METHODS.....	71
2.1 Study area	71
2.2 Culture medium	72
2.2.1 Inoculum	72
2.3 Experimental unit.....	72
2.4 Experimental design.....	73
2.5 Operation and monitoring.....	73
2.5.1 Analyzes.....	73
2.5.2 Phytoplanktonic community	74
2.5.3 Biomass characterization	75
2.5.4 Statistical analysis.....	75
3 - RESULTS AND DISCUSSION.....	75
3.1 – Growth and production of biomass	75
3.2 – Effluent bioremediation.....	81
3.3 - Phytoplanktonic community and biochemical characterization of biomass ...	88
4 - CONCLUSIONS	92
5 – REFERENCES	92
6 - SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	99

ARTIGO 3 – POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES EM BIOMASSA ALGAL DURANTE O TRATAMENTO DE EFLUENTES EM LAGOAS DE ALTA TAXA COM DIFERENTES COMPOSIÇÕES NUTRICIONAIS: AVALIAÇÃO DA MISTURA DE EFLUENTE DA CABINE DE PINTURA E ESGOTO DOMÉSTICO

.....	102
RESUMO GRÁFICO	103
1 - INTRODUÇÃO.....	103
2 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	105
2.1 Unidade experimental e delineamento de cultivo	105
2.2 Inóculo de microalgas	106
2.3 Operação e monitoramento.....	106
2.4 Caracterização da comunidade fitoplanctônica	107
2.5 Produção de biomassa	107
2.6 Análise de carotenoides totais e específicos.....	107
2.7 Análise estatística.....	108
3- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	108
3.1 Comunidade fitoplanctônica.....	108
3.2 Caracterização das condições ambientais e do meio de cultivo	110

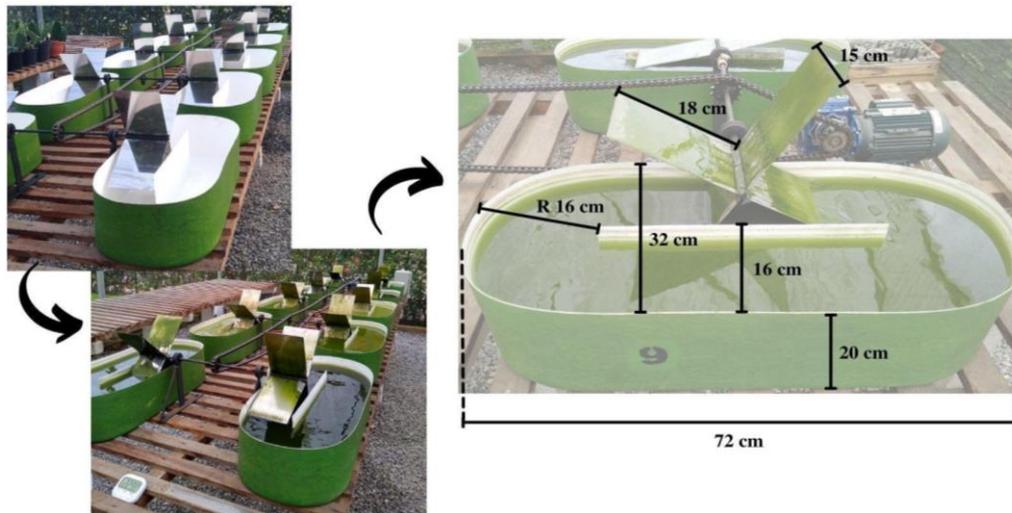
3.3	Produção de biomassa	114
3.4	Produção de carotenoides	115
3.4.1	Caracterização quantitativa dos carotenoides	115
3.4.2	Caracterização qualitativa dos carotenoides	116
3.4.3	Efeito dos nutrientes na produção dos carotenoides.....	117
4	– CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	122
5	– CONCLUSÃO	123
6	– AGRADECIMENTOS	123
7	- REFERENCIAS	124
8	- MATERIAL SUPLEMENTAR	129
	CONCLUSÕES GERAIS	131

APRESENTAÇÃO GERAL

O presente trabalho foi desenvolvido como parte integrante do projeto de pesquisa FAPEMIG TEC APQ-00114-21, intitulado “Microalgas como agentes de recuperação de recursos no saneamento ambiental: biorremediação de efluentes e potencial para produção de biopolímeros”, coordenado pela professora Paula Peixoto Assemany, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Lavras. Este projeto objetiva a biorremediação de efluentes e a reciclagem de nutrientes via ação de microalgas, demonstrando o potencial desta biotecnologia de tratamento e a possível transformação das estações de tratamento de efluentes (ETEs) convencionais em ETEs sustentáveis. Uma parceria foi formada com o grupo de pesquisa SIGEOnPA, do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa, grupo esse com expertise na pesquisa com microalgas, atuando desde 2013 nesta área.

O experimento foi realizado no Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA), da Universidade Federal de Viçosa. Como unidade experimental foram utilizadas 10 lagoas de alta taxa (LATs) em escala de bancada (Figura1)

Figura 1. Lagoas de alta taxa em escala de bancada, LATs.



Fonte: Do autor (2023).

A presente dissertação de mestrado foi elaborada com divisão em duas partes principais. A primeira abrange uma introdução geral, objetivos gerais e específicos que guiaram o trabalho, as hipóteses e o referencial teórico. Este último foi subdividido em tópicos, eles estão estruturados em: (i) efluentes industriais, sobretudo os gerados durante as etapas de uma indústria de móveis; (ii) a mistura de efluentes, buscando a realização de uma análise entre as

vantagens e desvantagens; (iii) o estudo das microalgas como agentes de tratamento, buscando compreender os reatores de produção, os fatores que estimulam ou inibem o crescimento das algas, e o uso das microalgas no tratamento de efluentes com características diversas; (iv) o cultivo de microalgas em meios com a presença solventes, compostos orgânicos aromáticos e carbono dissolvido; e (v) os produtos de valor agregado potencialmente produzidos durante o cultivo de microalgas. A segunda parte apresenta os manuscritos elaborados com base nos experimentos realizados, são eles: (i) o manuscrito do teste de crescimento algal e produção qualitativa de carotenoides em misturas dos efluentes; (ii) a análise de tratabilidade das misturas, assim como as características da biomassa de algas produzidas; e (iii) a avaliação dos carotenoides produzidos pela biomassa de microalgas. Além disso, a segunda parte se encerra com conclusões gerais do trabalho.

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO

Considerado como um dos setores econômicos mais antigos, a indústria moveleira abrange a produção de bens duráveis e de consumo, sendo responsável pela produção de uma série de produtos com diversas finalidades (MEDEIROS et al., 2017). A produção brasileira de móveis representa 3,2 % da produção mundial, abrangendo 21,8 mil estabelecimentos e gerando aproximadamente 235 mil empregos (BRAINER, 2018). No país, os maiores polos do setor moveleiro são o polo de Bento Gonçalves no Rio Grande do Sul, o de Arapongas no Paraná, o de Votuporanga em São Paulo e o de Ubá em Minas Gerais. O setor é diversificado quanto ao foco de produção e características dos empreendimentos, variando de pequenas a grandes indústrias (SPEROTTO, 2018).

Durante o processo produtivo dos móveis de madeira são gerados subprodutos de caráter poluidor ao meio ambiente, dentre eles estão as serragens advindas da etapa do corte da madeira, a poeira particulada proveniente das etapas de corte e lixamento e o efluente gerado a partir do processo de pintura e acabamento dos produtos (KRAVCHENKO; PASQUALERRO; FERREIRA, 2016). O processo de pintura e acabamento é realizado dentro de uma cabine de pintura, construída em alvenaria e isolada do restante do empreendimento, onde são aplicados aos móveis de madeira produtos como solventes, tintas e vernizes. A aplicação é realizada em frente a uma cortina de água que capta todo excesso do produto, controlando a emissão de seus vapores para a atmosfera e gerando o efluente de cabine de pintura (ECP). Este efluente pode acarretar problemas ao meio ambiente, sendo composto de altos teores de sólidos suspensos totais, elevada concentração de demanda química de oxigênio (DQO), além da presença de substâncias tóxicas como xilenos e toluenos (BOLONHESI et al., 2022; SANTOS et al. 2010).

Devido às características físicas e químicas dos efluentes gerados nas cabines de pinturas das indústrias moveleiras tem-se como empecilho a sua destinação correta e seu tratamento. Os ECPs não são gerados de maneira contínua, por essa razão a maior parte das indústrias, sobretudo as de pequeno porte (BOLONHESI; LOPES; PRATES, 2017), ainda descartam inadequadamente o efluente na rede de coleta de esgoto doméstico, poluindo os corpos receptores e, ou interferindo na eficiência de tratamento das estações municipais (KACZALA; MARQUES; HOGLAND, 2010). Vale ressaltar que quando o efluente não é descartado de maneira incorreta, as empresas investem em pagamentos a terceiros para que retirem os efluentes dos estabelecimentos, externalizando a destinação final dos mesmos.

Para diminuir os custos e, ou impedir o descarte impróprio dos efluentes, estudos foram realizados visando o tratamento do ECP. Um dos tratamentos mais utilizados e estudados é o tratamento convencional físico-químico de coagulação e floculação. No entanto, este enfrenta como dificuldade a ineficiência na neutralização dos compostos tóxicos presentes (SANTOS et al. 2010). Além da dificuldade de tratar os compostos tóxicos, a implantação de sistemas de tratamento físico-químico leva as empresas, principalmente as de médio e grande porte, a construir dois sistemas de tratamento, um voltado para o ECP e o outro voltado para o tratamento de esgoto doméstico (ED), também produzido na indústria.

Uma maneira de amenizar os gastos com diferentes sistemas de tratamento e, também, auxiliar na remoção de poluentes e tratamento do ECP, que possui baixa concentração de nutrientes em sua composição (BOLONHESI et al., 2022), seria a realização de misturas entre os efluentes. Estas misturas podem complementar o meio de cultivo com características relevantes em cada efluente, otimizando as proporções entre os nutrientes, contribuir para o crescimento celular de organismos (MORENO-GARCIA et al., 2019) e atuar como efeito de diluição das cargas elevadas. Além disso, as misturas entre os efluentes e o consequente aumento de nutrientes podem diversificar os sistemas a serem usados como tratamento, incluindo os sistemas biológicos.

Um processo de tratamento de efluentes, estudado no Brasil e no mundo, que pode viabilizar o tratamento em conjunto do ECP e do ED é o tratamento via lagoas de alta taxa (LATs). Esta tipologia de tratamento faz uso de microrganismos, como microalgas e bactérias, para biorremediação dos efluentes (SUTHERLAND et al., 2020). Durante o processo de desenvolvimento dos microrganismos, são removidos do meio líquido os macro e micronutrientes, a matéria orgânica e outros compostos, incluindo metais e solventes, presentes no efluente (SANTIAGO et al., 2013). O uso das microalgas, além de possibilitar o tratamento dos efluentes, pode garantir o conceito de sustentabilidade ao tratamento de efluentes industriais. A produção da biomassa microalgal e seu aproveitamento possibilitam a economia circular, verde e baseada em bioprodutos, conferindo valor agregado aos subprodutos do tratamento (STILES et al., 2018). Outras vantagens do uso desse sistema de tratamento são a praticidade, o baixo custo envolvido e a dispensa do uso de produtos químicos (MENDONÇA et al., 2021).

Ademais, as características do ECP, como por exemplo as elevadas cargas orgânicas e baixas concentrações de nutrientes, podem levar as algas a produzirem e acumularem uma diversidade de subprodutos, entre eles estão os compostos de carotenoides (D'ALESSANDRO;

FILHO, 2016). Estes compostos são pigmentos naturais de caráter lipofílico responsáveis por uma variedade de colorantes encontrados na natureza estando presentes em plantas, fungos, bactérias e algas, e possuem funções de fotoproteção e auxílio na captação de energia pela luz (MATHEWS; SISTROM, 1959; CHOUDHURY; BEHERA, 2001; AVALOS; LIMÓN, 2015; KALRA; CONLAN; GOEL, 2020; KALRA; GAUR; GOEL, 2021). Os carotenoides conferem benefícios à saúde humana e podem ser aplicados em diversas tipologias industriais, possuindo propriedades antioxidantes e corantes. Por possuírem um alto valor agregado de mercado, estes metabólitos são visados para produções sustentáveis atrelando o cultivo de microalgas, ricas em carotenoides, à metodologias e tecnologias de tratamento de águas residuárias (KALRA; GAUR; GOEL, 2021).

Assim, a possibilidade de tratamento dos efluentes gerados na indústria moveleira, ECP e ED, via biotecnologia de microalgas se apresenta como uma rota favorável e atrativa, uma vez que, além da premissa de remediação e atendimento à legislação ambiental, o desenvolvimento das algas em ambientes inconstantes pode estimular a geração de bioprodutos com importante valor econômico (ALI et al., 2021). Dessa maneira, o presente estudo busca avaliar o crescimento algal e o acúmulo de carotenoides pelas microalgas durante o tratamento conjunto de ECP e ED em LATs. Para isso, investigou-se o potencial de tratamento de diferentes misturas entre ECP e ED. O tratamento foi avaliado por meio da redução das cargas orgânicas e dos compostos potencialmente poluidores presentes nas misturas no decorrer do crescimento e desenvolvimento algal, considerando-se as eficiências de remoção destes compostos (COUTO et al., 2021). Já o acúmulo de carotenoides foi estudado na biomassa produzida durante o tratamento, na qual foi realizada a extração dos compostos das células microalgais e sua leitura, e quantificação, em cromatógrafo líquido de alta eficiência.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a influência de diferentes misturas de esgoto doméstico e efluente da cabine de pintura no processo de biorremediação e acúmulo de carotenoides pela biomassa de algas em lagoas de alta taxa.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da presença de solventes no crescimento algal e na tratabilidade das misturas de efluentes com a utilização da biotecnologia de microalgas.

- Determinar a composição de mistura ótima entre o efluente de cabine de pintura e esgoto doméstico, visando a melhor eficiência de tratamento, maior acúmulo de carotenoides e produção de biomassa.
- Caracterizar quanti e qualitativamente a comunidade fitoplanctônica submetida a diferentes misturas entre efluente de cabine de pintura e esgoto doméstico.
- Caracterizar a biomassa produzida nas diferentes misturas entre efluente de cabine de pintura e esgoto doméstico, em relação à sua composição bioquímica.
- Caracterizar quanti e qualitativamente os carotenoides acumulados pela biomassa em diferentes misturas entre efluente de cabine de pintura e esgoto doméstico.

3. HIPÓTESES

- A combinação de ECP e ED viabiliza tecnicamente o tratamento em lagoas de alta taxa.
- A presença de solventes pode afetar o crescimento algal e consequentemente o desempenho do tratamento. Em baixas proporções de efluente da cabine de pintura em comparação com o esgoto doméstico, os solventes podem estimular o crescimento algal, por proporcionar fonte de carbono orgânico para as espécies algais mixotróficas. No entanto, em elevadas proporções, o crescimento algal pode ser inibido devido à toxicidade dos solventes.
- As condições de estresse do meio de cultivo, mais especificamente a carência de nutrientes em condições de maiores proporções de efluente da cabine de pintura em comparação com o esgoto doméstico, pode levar a um maior acúmulo de carotenoides pelas microalgas.

4. REFERENCIAL TEÓRICO

4.1. Geração de efluentes industriais

A fabricação de bens de consumo, como vestuário, móveis e eletrodomésticos, pode culminar na geração de subprodutos de potencial poluidor ao meio ambiente, quando não descartadas corretamente. Dentre os subprodutos estão a geração de resíduos sólidos, a água utilizada no processo de fabricação com qualidade comprometida e a emissão de gases poluidores para a atmosfera (VIEIRA; DE BEM; FERREIRA, 2021). Com isso, as indústrias são reconhecidas como potenciais fontes poluidoras, apresentando em seus poluentes compostos orgânicos e produtos sintéticos, como solventes e medicamentos, que podem possuir características e comportamentos ambientais desconhecidos (LIU et al., 2022a).

Dentre os poluentes produzidos durante os processos industriais estão os efluentes líquidos, que resultam dos processos de limpeza e, ou confecção de produtos. Estes são produzidos por diversas tipologias industriais - como as indústrias de couro, curtume, farmacêutica e moveleira - e por diversos setores dentro de uma mesma fábrica, podendo afetar negativamente os ecossistemas aquáticos e causar toxicidade e mortandade de espécies (SARAVANAKUMAR et al., 2022; WEAR et al., 2021). Saravanakumar et al. (2022) categorizaram os efluentes industriais em três tipos: 1) efluentes relacionados à indústrias químicas e seus resíduos advindos de processos inorgânicos; 2) relacionado à indústrias têxteis e de processamento, onde os resíduos são provenientes majoritariamente de processos orgânicos; 3) relacionado à indústrias de fertilizantes e de fabricação de matérias primas, contendo resíduos químicos em sua composição (SARAVANAKUMAR et al., 2022).

Os principais efluentes líquidos gerados pela indústria de móveis de madeira são a borra de tinta, os solventes de tinta, o efluente de cabine de pintura (ECP) (DE LIMA; SILVA, 2005) e os esgotos domésticos (ED) gerados nas cozinhas e banheiros das instalações. Os ECPs são produzidos nas etapas de acabamento dos móveis, sobretudo na etapa de pintura, e possuem em sua composição traços de componentes presentes nos vernizes, tintas, catalizadores e diluentes utilizados durante a etapa produtiva (BOLONHESI et al., 2022). As pinturas são realizadas dentro de cabines fechadas e separadas das demais unidades fabris. Nestas unidades um jateamento de spray é aplicado sobre os móveis, e atrás destes móveis estão localizadas cortinas de fluxo contínuo de água que captam o excesso de tinta, e outros produtos químicos aplicados, e os depositam em um tanque de recirculação (VAAJASAARI et al., 2004). É importante ressaltar que a produção deste efluente ocorre de maneira intermitente e que a água que compõe a cortina é reutilizada durante um tempo pré-estabelecido (BOLONHESI et al., 2022), que pode variar de semanas a meses.

4.1.1. Efluente de cabine de pintura

Como apresentado no item 4.1, o ECP é produzido durante o processo produtivo das fábricas de móveis (OLIVEIRA; FRANÇA; RANGEL, 2018). Este efluente possui características peculiares e dependentes dos compostos utilizados na pintura dos móveis, apresentando compostos orgânicos voláteis em sua composição, sobretudo os solventes de caráter aromáticos (VAAJASAARI et al., 2004). Alguns estudos avaliaram as características deste efluente visando um maior entendimento e a possibilidade de tratamento. Vaajasaari et al. (2004) avaliaram as propriedades dos resíduos de tintas presentes em oito cabines de pintura,

entre secas e cortinas de água, avaliando o risco ambiental e a descartabilidade dos resíduos gerados. No Brasil, Santos et al. (2010), realizaram uma caracterização dos ECPs gerados no polo moveleiro de Ubá, Minas Gerais, e consideraram a tratabilidade biológica do mesmo. Já Bolonhesi et al. (2022) avaliaram a biodegradação do formaldeído presente nos ECPs da região sul brasileira, e realizaram uma caracterização do mesmo. Na Tabela 1 são apresentadas as principais características do efluente em estudo.

O tratamento físico-químico de coagulação e floculação é a tipologia de tratamento comumente utilizada para este efluente, geralmente com o uso de cal ou outros coagulantes convencionais. No entanto, a eficiência de tratamento e a remoção de suas cargas tóxicas não são satisfatórias (SANTOS et al., 2010; BOLONHESI et al., 2022). Santos et al. (2010) avaliaram o uso de um reator anaeróbio de fluxo ascendente (UASB) no tratamento de ECP, e observaram 90% de eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO) em misturas entre ECP e ED e uma queda para 44% quando se utiliza o ECP sozinho. Entretanto, a combinação desse sistema com um reator aeróbio de mistura completa eleva a eficiência global de remoção de DQO. Já Bolonhesi et al. (2022), avaliaram o uso de um reator descontínuo sequencial anaeróbio seguido por um reator descontínuo sequencial aeróbio para o tratamento deste efluente, se mostrando como um sistema eficiente na redução de compostos e cargas presentes no meio.

Tabela 1 – Características do efluente de cabine de pintura (ECP).

Variável (mg/L)	Estudos avaliados		
	Vaajasaari et al. (2004)	Santos et al. (2010)	Bolonhesi et al. (2022)
DQO _t	-	634,00	10550,00
DQO _f	-	495,00	7985,00
ST	-	538,00	2850,00
SV	-	428,00	1170,00
P-total	-	0,305	0,70
NKT	-	0,00	12,70
COT*	1954,00	-	-
Compostos presentes	Isopropanol		
	Isobutanol		
	Tolueno		
	Etilbenzeno	-	Formaldeído
	Xileno		
	Solvente de hidrocarboneto aromático		

*Média (n=5) dos valores apresentados pelos autores.

DQO_t – Demanda química de oxigênio total; DQO_f – Demanda química de oxigênio filtrada; ST – Sólidos totais; SV – Sólidos voláteis; P-total – Fósforo total; NKT – Nitrogênio Kjeldahl total; COT – Carbono orgânico total.
Fonte: Do autor (2023).

4.2. Microalgas como agentes de tratamento

4.2.1. Principais características

As algas possuem elevada diversidade de tamanhos e formas, compreendendo organismos microscópicos unicelulares (microalgas) à multicelulares (macroalgas) (EL-SHEIKH et al., 2022). São organismos que realizam fotossíntese, podendo em algumas espécies apresentar também o metabolismo heterotrófico, e possuem estruturas produtivas simples, sobrevivendo em ambientes complexos, sob condições extremas e com alta capacidade de adaptação (KURNIAWAN et al., 2022). Devido a suas peculiaridades são considerados organismos de rápido crescimento e de fácil cultivo (EL SHENAWY et al., 2020).

Estes organismos vivem em ambientes aquáticos e são desprovidas de embriões, folhas, raízes e caules reais, sendo constituídas, principalmente, por carboidratos, lipídeos e proteínas, desfrutando da água, luz solar e CO₂ para realizar a fotossíntese (ZHU, 2015; CHEW et al., 2017). Além disso, são uma fonte de compostos de valor agregado como esteróis, vitaminas, pigmentos, ácidos orgânicos, fitohormônios e outros (ABREU et al., 2022). A principal forma de reprodução destes microrganismos é a assexuada, através da divisão celular, contudo, dependendo das condições de crescimento e da espécie, podem se reproduzir de maneira sexuada (SHEEHAN et al., 1998). São classificadas em uma variedade de grupos, podendo ser diferenciadas pela pigmentação, estrutura celular e ciclo de vida. Em termos de abundância, as mais relevantes são: as diatomáceas (Bacillariophyceae), as algas verdes (Chlorophyceae) e as douradas (Chrysophyceae) (MADEIRA et al., 2017).

4.2.2. Sistemas de cultivo

Por serem organismos de rápido crescimento, capazes de usar água, luz solar e CO₂ para sintetizar biomassa, e de fácil cultivo em diversos meios de cultura, as microalgas chamam a atenção para aplicação no tratamento de efluentes. A biomassa de microalgas pode ser produzida em diferentes reatores de cultivo, desde que o meio em que estejam inseridas contenha nutrientes e condições mínimas de sobrevivência (MORAIS JUNIOR et al., 2020). Dentre os sistemas de cultivo de microalgas estão os reatores abertos, como as lagoas de alta taxa (LATs), os sistemas fechados, como os fotobiorreatores, e os sistemas híbridos, com crescimento aderido e suspenso (SIROHI et al., 2022).

Dentre os sistemas de produção de biomassa algal, ressaltam-se as LATs como o principal reator utilizado para o cultivo de biomassa algal concomitante ao tratamento de efluentes (COUTO; CALIJURI; ASSEMAN, 2020). Este sistema de tratamento foi

desenvolvido no século XX, na Universidade da Califórnia, e objetiva o uso de microalgas para o tratamento de águas residuárias (OSWALD et al., 1957), e favorece a interação entre algas e bactérias (COUTO et al., 2021). Estas lagoas possuem profundidade variável, de 0,2 a 0,5 m, com a presença de chicanas centrais e pás giratórias, estas últimas promovem a mistura do efluente no interior da lagoa de maneira contínua (CRAGGS et al., 2014). A mistura do efluente, além de minimizar a estratificação térmica, faz com que a radiação atue de maneira homogênea ao processo, otimizando o crescimento da biomassa (SUTHERLAND; TURNBULL; CRAGGS, 2014).

As LATs causam um menor impacto negativo ao meio ambiente quando comparadas à alguns sistemas convencionais de tratamentos de efluentes, sobretudo sob os pontos de vista de produção, operação e manutenção (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011; TAYLOR; JONES; LAUBSCHER, 2021). São sistemas de baixo custo e de pouca demanda de insumos para operação, e dessa forma, se tornaram uma opção técnica e economicamente viável para a produção de microalgas (GARFÍ; FLORES; FERRER, 2017).

Nas LATs, a fotossíntese realizada pelas algas produz o oxigênio demandado pelas bactérias heterotróficas na degradação da matéria orgânica. Por sua vez, o CO₂ e os nutrientes resultantes da degradação são assimilados pelas algas (SANTIAGO et al., 2013; ABDO et al., 2016). Esta relação simbiótica auxilia no tratamento dos efluentes, na recuperação de nutrientes e, dessa maneira, também contribui para evitar a eutrofização dos corpos receptores (CRAGGS et al., 2014; GONÇALVES; PIRES; SIMÕES, 2017).

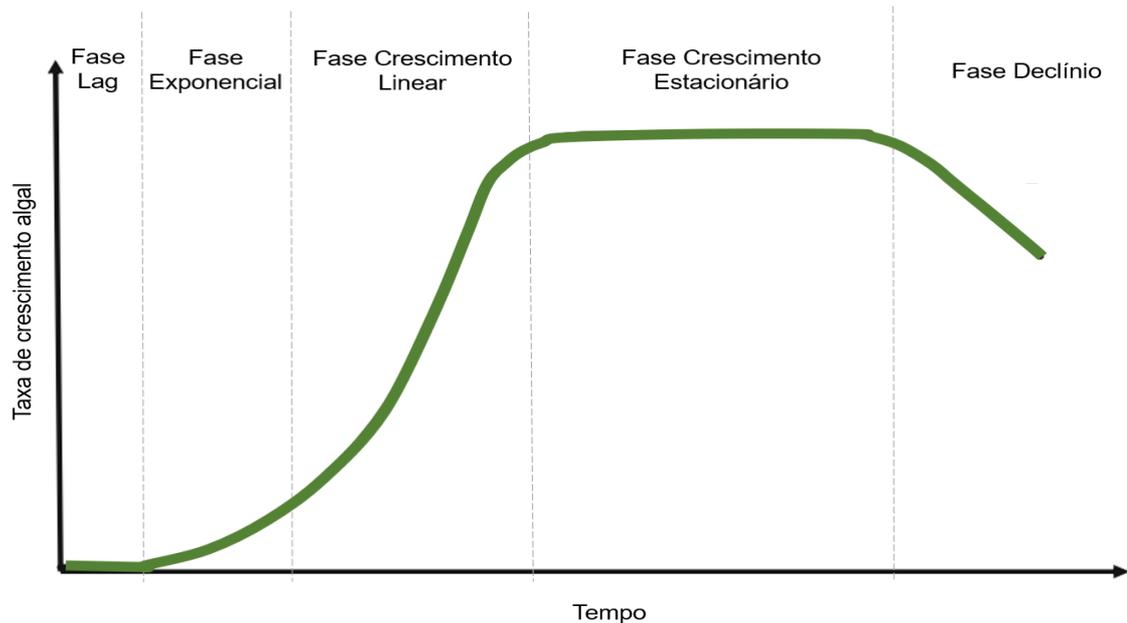
Os fotobiorreatores (FBRs), sistemas fechados de cultivo microalgal, podem ser encontrados em formatos tubulares, de colunas e em forma de placa plana. Possuem maior controle nas condições de cultivo, menores riscos de contaminação, são mais visados para a produção de compostos de valor agregado, porém são de difícil manutenção, possuem maior demanda energética quando comparados as LATs e possuem baixas perdas por evaporação e de CO₂ (KHOR et al., 2022). São recipientes selados e bem iluminados, sendo que sua estrutura impede a troca de gases e contaminantes com o meio externo o que minimiza a toxicidade e garante um ambiente ideal para o cultivo das algas possibilitando concentrações celulares mais elevadas em seu interior (SIROHI et al., 2022).

4.2.3. Fatores de estímulo

Em seu estudo sobre os efeitos da operação e parâmetros sobre o crescimento das algas, Nars et al. (2017), e de acordo com Richmond (2003), averiguaram que o crescimento

microalgal pode ser descrito em cinco principais fases: a fase lag, a exponencial, do crescimento linear, do crescimento estacionário e a de declínio ou morte. Em linhas gerais, estas fases configuram uma curva característica do desenvolvimento algal, sendo esta apresentada na Figura 1.

Figura 1. Curva de crescimento algal



Fonte: Adaptado de Richmond (2003).

A fase Lag é a fase inicial do crescimento microalgal ou a fase que se segue à inoculação. Considerada uma fase relativamente curta e caracterizada por não ocorrer crescimento ou declínio na cultura, esta latência acontece devido aos ajustes fisiológicos das algas ao novo meio em que estão inseridas (FERREIRA; SOUSA, 1998; NASR; ATEIA; HASSAN, 2017). Na fase exponencial as células aumentam exponencialmente no meio de cultivo. Isso ocorre devido à saturação dos nutrientes e intensidade da luz solar que provoca uma maior reprodução em função do tempo (NASR; ATEIA; HASSAN, 2017).

Já na terceira fase, a do crescimento linear, a taxa de crescimento das células é linear em função do tempo, ocorrendo uma desaceleração do crescimento, quando comparada com a fase anterior. Tal decréscimo ocorre devido a um fator limitante ou inibidor da reprodução. Entre os fatores limitantes estão a diminuição da concentração de nutrientes e o sombreamento entre as células (FERREIRA; SOUSA, 1998; NASR; ATEIA; HASSAN, 2017).

Na fase de crescimento estacionário existe uma constância na taxa de crescimento, assim como no consumo e armazenamento dos nutrientes. E, por fim, na fase de declínio ou morte

ocorre a redução dos microrganismos devido, principalmente, à diminuição da concentração de nutrientes no meio e ao acúmulo de substâncias inibidoras (NASR; ATEIA; HASSAN, 2017).

Além das fases do desenvolvimento das algas merecem destaque os fatores bióticos e abióticos que influenciam no cultivo e crescimento microalgal (ANANTHI et al., 2021). Dentre os fatores abióticos destacam-se a temperatura, a intensidade e qualidade luminosa, a concentração de macro e micronutrientes, O₂, CO₂, pH, salinidade e presença de produtos de caráter tóxico. Como fatores bióticos, citam-se a presença de vírus, bactérias, fungos e a competição destes com as algas. Além disso, os fatores operacionais relacionados ao reator de cultivo, como por exemplo a profundidade da LAT, podem influenciar o crescimento microalgal (COUTO et al., 2021).

Entre os fatores abióticos, os macronutrientes possuem elevado grau de importância no cultivo das microalgas, sendo os principais o nitrogênio, o fósforo e o carbono. Vale ressaltar que o efeito em conjunto destes nutrientes exerce tanta influência no cultivo quanto o efeito isolado, e que, a presença ou ausência desses nutrientes, resulta em diferenças na composição bioquímica da biomassa.

O nitrogênio é um nutriente limitante para o crescimento e desenvolvimento microalgal, sendo que a sua ausência pode causar modificações no comportamento das algas (IKARAN et al., 2015). Este elemento é essencial na composição da clorofila e para o crescimento algal, dessa maneira, as microalgas possuem a capacidade de conversão do nitrogênio orgânico em nitrogênio inorgânico, por meio da assimilação (ALI et al., 2021). Yeesang e Cheirsilp (2011) observaram um aumento da produção de biomassa algal quando o meio de cultivo estava sob condições de elevadas concentrações de nitrogênio e, também, testemunharam que na ausência de uma fonte de nitrogênio o crescimento observado foi praticamente nulo.

O fósforo é um elemento importante para o desenvolvimento das microalgas, regulando o metabolismo e estando presente em constituintes básicos das células, podendo ser acumulado dentro das mesmas (LIANG et al., 2013; RUIZ-MARTINEZ et al., 2014). Este elemento desempenha importante papel nos processos celulares, inclusive aqueles que envolvem transferência de energia, fotossíntese e respiração (THEREGOWDA et al., 2019).

Liang et al. (2013) observaram que o acúmulo lipídico das células de microalgas aumenta sob efeito de baixas concentrações de fósforo. Entretanto, de acordo com Ruiz-Martinez et al. (2014), quando se visa diminuir a carga de nitrogênio amoniacal e fósforo do meio de cultivo das microalgas, a adição de fosfato aumenta o conteúdo de fósforo dentro das células e aumenta a taxa de remoção de nitrogênio amoniacal. Dessa maneira, a presença de

fósforo no meio interfere de acordo com o objetivo do cultivo, agindo de maneira distinta sob a produção de seus subprodutos e a recuperação de recursos.

Dentre os compostos de carbono, tanto os inorgânicos quanto os orgânicos podem ser utilizados pelas microalgas, existindo, assim, uma variada fonte de compostos de carbono para utilização pelas algas, entre os quais estão o dióxido de carbono, o bicarbonato de sódio, o acetato de sódio e o melão (NAJAFABADI et al., 2015). Por serem classificadas como seres fotoautotróficos, as microalgas fazem uso de dióxido de carbono e energia solar como fonte energética para a produção de biomassa (MUHAMMAD et al., 2020). Já em cultivos sob condições de mixotrofia e heterotrofia as algas utilizam, além dos carbonos inorgânicos, os carbonos orgânicos como fonte de carbono (LEE et al., 2004; NAJAFABADI et al., 2015).

Uma vez que o metabolismo e nutrição das células são flexibilizados e adaptados conforme o ambiente em que estão inseridas (SHEN et al., 2015), diferentes formas de suplementação por fontes de carbono influenciam distintamente nos modos nutricionais das espécies de microalgas. De acordo com Najafabadi et al. (2015), o uso de dióxido de carbono como suplemento resulta em uma maior densidade de células, enquanto o uso de acetato de sódio aumenta o teor de ácidos gerados. É importante frisar que em uma baixa relação de carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) em efluentes, o carbono atua como elemento limitante, sendo que a relação ótima é de 100:18:1 (LIU et al., 2022b). Desse modo, sua suplementação se torna importante para o tratamento de águas residuárias (SHEN et al., 2015), principalmente quando o efluente a ser tratado é o esgoto doméstico (COUTO; CALIJURI; ASSEMAN, 2020).

A energia luminosa desempenha papel primordial na produtividade das microalgas, pois em sua presença ocorrem as reações fotossintéticas necessárias para a conversão dos nutrientes inorgânicos, dissolvidos no meio, em moléculas orgânicas (SUTHERLAND; TURNBULL; CRAGGS, 2014). No entanto, a radiação solar intensa, aliada à elevadas concentrações de oxigênio dissolvido, podem inibir o crescimento e o desenvolvimento microalgal, causando fotoinibição das células (CHISTI, 2007; COUTO et al., 2015). É importante salientar que o efeito da luminosidade nas lagoas de alta taxa está amplamente conectado à profundidade da mesma, e que o efeito da limitação da disponibilidade luminosa em efluentes é comum, uma vez que diversas tipologias de efluentes possuem coloração escura e teores elevados de sólidos suspensos, dificultando a penetração da radiação (SUTHERLAND; TURNBULL; CRAGGS, 2014).

A temperatura influencia diretamente no metabolismo das células microalgais, sendo importante para o seu crescimento, para a absorção de nutrientes, fixação de carbono e composição lipídica celular (SUBHASH et al., 2014), temperaturas mais elevadas estão associadas ao aumento do metabolismo microalgal (RAMOS; ASSEMAN; ENSINAS, 2022). Esse fator desempenha, ainda, papel crucial na fotoinibição, impactando a taxa de crescimento das algas (RENAUD et al., 2002). A faixa de temperatura ideal para o crescimento de microalgas é de 20 °C a 30 °C (SINGH; SINGH, 2015), no entanto, após alcançar os 30 °C há a diminuição na taxa de crescimento (SUBHASH et al., 2014).

4.2.4. Biorremediação de efluentes com microalgas

O uso combinado, ou não, de organismos vivos com a finalidade de redução das cargas poluidoras dos efluentes de diversas atividades antrópicas é denominado biorremediação (WANG et al., 2021). Este mecanismo aproveita da capacidade dos organismos de assimilar, reduzir ou transformar os produtos presentes no meio auxiliando na melhora da qualidade deste meio. Dentre os principais organismos, no processo de biorremediação, estão as plantas, as algas e microalgas (CHAVEZ - CROOKER; OBERQUE - CONTRERAS 2010; MARTÍNEZ-PORCHAS et al., 2010; WANG et al., 2021).

O cultivo microalgal, objetivando o tratamento de efluentes é importante de ser analisado, uma vez que promove o seu biotratamento a nível terciário, associado à produção de biomassa, possuindo capacidade de remoção de fósforo e nitrogênio inorgânicos para seu crescimento, além de sua capacidade de absorção de compostos orgânicos tóxicos (GONDI et al., 2022; SHARMA et al., 2022). Além disso, como já mencionado no item anterior (item 4.2.3), algumas espécies de microalgas são mixotróficas, ou seja, atuam de maneira simultânea como organismos heterotróficos e autotróficos. Dessa forma, são capazes de consumir carbono orgânico e inorgânico presente no meio (SUN et al., 2008), podendo aumentar a capacidade de purificação de águas residuárias (SHARMA et al., 2022).

Muitos são os mecanismos de biorremediação utilizados pelas microalgas, entre eles estão a bioacumulação, a biodegradação, a biossorção ou a combinação deles (SALAMA et al., 2017; WANG et al., 2021). A bioacumulação é o efeito de acumulação dos contaminantes, e/ou material presente no meio, internamente às células e abrange todas as rotas de exposição, desde a absorção até a exposição por meio da dieta alimentar (WANG et al., 2021). Já a biossorção atua de forma independente do metabolismo celular, uma vez que a biomassa de algas pode

reter os íons presentes no meio, por meio de mecanismos físico-químicos, estando viva ou morta (GUPTA; DIWAN, 2017).

A diversidade de espécies de microalgas gera um elevado potencial de biorremediação, podendo ocupar diversas faixas de temperatura, pH, CO₂ dissolvido, entre outros fatores. A biorremediação de efluentes via microalgas atua na remoção dos nutrientes e compostos orgânicos das mais variadas tipologias de efluentes, sendo considerada uma forma menos onerosa de remediação quando comparada aos métodos tradicionais (DIAS et al., 2019). Diversos trabalhos avaliaram o tratamento das águas residuárias e a produtividade algal nos processos de tratamento que envolvem o uso de microalgas. Muitas foram as tipologias de efluentes estudadas como meio de cultivo para as microalgas, entre elas estão: as águas residuárias domésticas, agropecuárias, agroindustriais e industriais (CRAGGS et al., 2014; PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011). No Quadro 1 é evidenciada a variedade de efluentes que comportaram o crescimento de microalgas, com o consequente tratamento dos mesmos.

Quadro 1. Cultivo microalgal em diferentes tipologias de efluentes.

Microalga	Efluente / Meio de cultivo	Reator de cultivo	Referência
<i>Chlorella</i> sp.	Efluente doméstico	Lagoas de alta taxa	Santiago et al. (2013)
<i>Chlorella vulgaris</i> , cianobactérias <i>Oscillatoria</i> sp.	Efluente doméstico	Híbrido - Lagoa de alta taxa e biofilme	Assis et al. (2017)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Efluente de aves	Fotobiorreatores	Oliveira et al. (2018)
<i>Scenedesmus</i> sp.	Efluente bovino e efluente sintético de esterco bovino	Frascos Erlenmeyer	Scherer et al. (2017)
<i>Chlorella</i> sp., <i>Chlorococcum</i> sp., e <i>Neochloris</i> sp.	Efluente farmacêutico	Frascos Erlenmeyer	Singh et al. (2020)
<i>Phaeodactylum tricornerutum</i>	Águas contaminadas por fármacos	Cultura em estoque	Santaeufemia et al. (2016)
<i>Chlorella</i> sp. e Cianobactérias	Águas marinhas contaminadas por cádmio	Fotobiorreator	Matsunaga et al. (1999)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Lixiviado de aterro sanitário	Frascos de vidro de 1 litro	Pereira et al. (2016)
<i>Chlorella</i> sp.	Meio com solventes orgânicos - Metanol	Fotobiorreator	Choi et al. (2011)
<i>Euglena gracilis</i>	Meio com solventes orgânicos - Etanol	Frascos Erlenmeyer	Mokrosnop et al (2016)
<i>Synechocystis</i> sp.	Meio com solventes orgânicos - Hexano	Frascos Erlenmeyer	Kämäräinen et al. (2012)

Fonte: Do autor (2023).

Santiago et al. (2013) avaliaram a produção de biomassa de microalgas, em LATs, a partir de águas residuárias de efluentes domésticos. Este estudo apresentou cerca de 70% de eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal e 20% de remoção de fósforo solúvel. Dentre os diversos gêneros de microalgas encontrados no referido estudo, destaca-se o gênero *Chlorella* sp., como a microalga mais abundante nas condições avaliadas pelos autores.

Scherer et al. (2017), por sua vez, avaliaram o grau de biorremediação de efluente bovino e efluente sintético de esterco bovino diluído em água (30% v/v), verificando as cargas de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e matéria orgânica antes e após o cultivo de microalgas da espécie *Scenedesmus* sp.. Foram realizadas análises físicas e químicas do efluente bruto e clarificado, avaliando-se a eficiência de remoção dos nutrientes e resultando em taxas de remoção da ordem de 53,6 % de demanda química de oxigênio (DQO), de 51,9% de fósforo, 100% de nitrogênio amoniacal e 92,5 % de nitrogênio total (SCHERER et al., 2017).

Com o objetivo de se realizar o tratamento de águas residuárias de aves a partir da microalga *Scenedesmus obliquus*, Oliveira et al. (2018) alcançaram resultados satisfatórios quanto à remoção de poluentes, por exemplo, cerca de 97% de nitrogênio amoniacal e fosfato foram removidos. Dessa maneira, tal procedimento de biorremoção auxilia na diminuição dos impactos ambientais e econômicos negativos associados ao meio de tratamento desta tipologia de efluente.

Singh et al. (2020) analisaram o cultivo de microalgas (*Chlorella* sp., *Chlorococcum* sp., e *Neochloris* sp.) em águas poluídas com efluente farmacêutico. O presente estudo constatou que a eficiente assimilação de poluentes e nutrientes das águas se torna atraente para o processo de biorremediação e obtenção de produtos comerciais. Resultados indicaram eficiência de remoção de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) acima de 83% e de DQO próxima a 89%, confirmando as microalgas como biocatalizadores potenciais para o tratamento de corpos hídricos poluídos e destacando a sua capacidade de agregar valor aos subprodutos.

A remoção do antibiótico oxitetraciclina de águas naturais marinhas pela capacidade de remoção da espécie de microalga *Phaeodactylum tricornutum* foi avaliada por Santaefemia et al. (2016). Os autores realizaram estudos de biossorção pela biomassa microalgal, combinando biorremediação e fotodegradação. Como resultados destaca-se a eliminação de 97% de 2,5 mg/L do antibiótico em 11 horas, sendo a maior capacidade de sorção de 29,18 mg/g, demonstrando que a biomassa viva de microalgas pode ser substrato promissor na remoção destes compostos.

Matsunaga et al. (1999) examinaram a capacidade de remoção de cádmio do ambiente marino por meio de cepas de microalgas marinhas e as cianobactérias *Synechococcus* e *Prochlorococcus*, obtendo taxas de remoções de 48,7% e 10%, respectivamente. Já Pereira et al. (2016) avaliaram o potencial de remoção de nutrientes e fitorremediação de efluente de lixiviado de aterro sanitário, suplementado com fósforo, pela microalga *Chlorella vulgaris*. As taxas de remoção foram para nitrogênio total de 1,2-5,1 mg/L.dia e para fósforo de 0,76-1,7 mg/L.dia, mostrando a capacidade de crescimento e desenvolvimento de microalgas neste efluente aliada à remoção efetiva dos nutrientes.

4.2.5. Misturas de efluentes como meio de cultivo

Diferentes autores avaliaram misturas entre efluentes como opção de aperfeiçoamento do tratamento e como meio para o cultivo de microalgas. Al-Mohammedawi e Znad (2020) avaliaram a mistura de efluentes pré-tratados de cervejaria e restaurante para a redução de cargas e produção de biohidrogênio, reforçando que as misturas podem ser vantajosas para o aumento da produtividade dos subprodutos avaliados, além do fato de que a combinação entre os diferentes efluentes é uma opção econômica. Moreno-Garcia et al. (2019) avaliaram a mistura de quatro efluentes diferentes (lixiviado de aterro, digerido de lixiviado, efluente de tanque séptico e efluente de uma estação de tratamento de efluente convencional) para a produção de biomassa de microalgas, verificando o efeito de cada efluente no crescimento das células e afirmando que as misturas podem garantir a complementação dos nutrientes necessários para o desenvolvimento algal. Xie et al (2019) avaliaram a viabilidade de crescimento microalgal em misturas de efluente bruto de digestão anaeróbia com água de chuva, focando no potencial de diluição das cargas elevadas do primeiro. Estes autores concluíram que a mistura foi adequada para o consórcio entre bactérias e microalgas, aumentando a remoção dos nutrientes e demais poluentes orgânicos.

Durante o processo de confecção dos móveis de madeira são produzidos diferentes efluentes com características distintas, o ECP e o ED. O primeiro possui cargas de demanda química de oxigênio (DQO) elevadas e presença de solventes em sua composição (BOLONHESI et al., 2022), já o segundo é rico em nutrientes, sobretudo nitrogênio e fósforo. Assim, uma mistura entre estes efluentes pode ser avaliada como uma alternativa para o tratamento simultâneo e redução de gastos, já que seus atributos têm a possibilidade de complementação nutricional em meios de cultivo para microalgas.

4.3. Cultivo de microalgas em solventes

Solventes a base de carbono como o etanol, o metanol, clorofórmio, acetona, dentre outros, são denominados solventes orgânicos. Estes diferem das demais tipologias de solventes quanto ao ponto de ebulição, polaridade, densidade e miscibilidade em água (MIAZEK et al., 2017). Estes solventes são aplicados em diversas tipologias industriais, tais como: a indústria farmacêutica, alimentícia, petrolífera e petroquímica (GRODOWSKA; PARCZEWSKI, 2010). Aliada a esta diversidade de aplicação, estes solventes podem ser considerados como potenciais ameaças ao meio ambiente (ASAKAWA et al., 2003; AMDE; LIU; PANG, 2015).

De acordo com Santos et al. (2010) e Bolonhesi et al. (2022), na indústria de móveis de madeira, a pintura dos móveis é realizada em uma cabine especial, construída em alvenaria e isolada do restante do empreendimento. Além do isolamento, esta cabine é circundada por cortinas de água, que controlam a emissão para a atmosfera dos vapores e produtos químicos constituintes dos solventes, tintas e vernizes. Desta maneira, a água das cortinas da cabine de pintura pode conter compostos orgânicos e inorgânicos, principalmente xilenos e toluenos, conferindo potencial toxicidade ao efluente.

Muitos solventes são utilizados nas indústrias e podem interferir no desenvolvimento das microalgas, entre eles estão os álcoois, cetonas, compostos de enxofre, compostos clorados, compostos aromáticos, entre outros (MIAZEK et al., 2017). A possibilidade destes solventes adentrarem as células algais por difusão passiva, faz com que estes compostos possam desempenhar papel de estímulo ou inibição para as microalgas (COOPER, 2000). A composição dos solventes nos efluentes industriais pode determinar a aplicação destes efluentes como meios de cultivo para as microalgas, uma vez que os solventes orgânicos podem exercer efeitos negativos ou positivos no crescimento microalgal (MIAZEK et al., 2017).

Os efeitos dos solventes dependem da concentração destes no meio e da espécie de microalga inserida no efluente. O metanol, por exemplo, melhora o crescimento da microalga *Chlamydomonas reinhardtii* em 35% após alguns dias de cultivo (STEPANOV; ZOLOTAREVA, 2015) e aumenta a produtividade de clorofila- α e da biomassa de *Chlorella sorokiniana* em 160% e 69%, respectivamente (HUNT et al., 2010). Entretanto, este composto pode inibir o crescimento e desenvolvimento de *Chlorella vulgaris* e *Selenastrum capricornutum* (EL JAY, 1996). O composto etanol pode ser utilizado como fonte de carbono para o cultivo de cepas de microalgas, gerando efeito positivo no desenvolvimento da microalga

Euglena gracilis (MIAZEK et al., 2017). O hexano, por sua vez, confere toxicidade à *Synechococcus elongatus* (KÄMÄRÄINEN et al., 2012).

4.4. Produtos de valor agregado

As microalgas são organismos de rápido crescimento que possuem a capacidade de se desenvolver em condições ambientais diversas, sendo capazes de remover metais, nutrientes e outros produtos nocivos ao meio ambiente (SHARMA et al., 2022), e são consideradas produtoras primárias (LIU et al., 2022b). As microalgas são dotados de habilidades metabólicas que beneficiam o acúmulo de substâncias, tais como proteínas, lipídeos, carboidratos, clorofilas e carotenoides (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022). Desta forma, possuem potencial para funcionar como biorrefinaria de compostos, onde produtos de valor agregados podem ser extraídos, aplicados na indústria e, ou transformados em energia (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022; SIDDIKI et al., 2022).

Como apresentado nos itens 4.2 e 4.3, diferentes tipologias de águas residuárias podem ser utilizadas como meio de cultivo de microalgas, cada uma dispendo de características e propriedades físicas e químicas diferentes (GONDI et al., 2022). A composição destas águas residuárias podem induzir o acúmulo de diversos subprodutos no interior das células (LIU et al., 2022b). Em seu estudo de revisão, Sharma et al. (2022) averiguaram que em águas residuárias municipais a produção de biomassa pode ser aumentada. Segundo os autores, em efluentes de cervejaria e destilaria as microalgas são capazes de fixar nutrientes para posterior conversão em bioprodutos e podem agir como agentes recuperadores de substâncias presentes em efluentes industriais, sobretudo a indústria farmacêutica. Gondi et al. (2022) identificaram que efluentes com a presença de nitratos, fosfatos e compostos orgânicos auxiliam na produção, pelas algas, de subprodutos para a preparação de biocombustíveis. Já Liu et al. (2022b) destacaram que o estresse nutricional pode promover o acúmulo de lipídios pelas células microalgais.

As microalgas são capazes de recuperar nutrientes (como carbono, nitrogênio e fósforo) e outros compostos (como fármacos e solventes) presentes nas águas residuárias (SHARMA et al., 2022). Dentre os subprodutos de valor agregados que podem ser recuperados por meio das microalgas estão os ácidos graxos, corantes, vitaminas, nutracêuticos, clorofilas e carotenoides (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022; SIDDIKI et al., 2022). Além destes produtos, a biomassa de algas pode ser utilizada para a produção de biocombustíveis (como biodiesel,

bioetanol e biobutanol), biogás, fertilizantes orgânicos e na alimentação animal (CHEIRSILP; MANEECHOTE, 2022; SIDDIKI et al., 2022).

4.4.1. Produção de carotenoides em microalgas

Os compostos de carotenoides produzidos pelas algas possuem funções de captação de luz e de fotoproteção (CHOUDHURY; BEHERA, 2001; PAGELS et al., 2020). Esses são diferenciados de acordo com a estrutura de suas moléculas entre carotenos e xantofilas, podendo ser desprovidos de átomos de oxigênio, denominados carotenoides primários, ou oxigenados, carotenoides secundários (YAHIA; ORNELAS-PAZ, 2010; PAGELS et al., 2020). Os primários são partes constituintes dos aparelhos fotossintéticos das células, agindo nestes como pigmentos fotossintéticos, absorvendo energia e transferindo-a para as clorofilas, auxiliando na produção de alimentos (NISAR, et al., 2015). A produção dos carotenoides secundários pelas células de microalgas é realizada quando estão expostas a determinados estímulos, como condições específicas de estresse ambiental, auxiliando em sua proteção (LEMOINE; SCHOEFS, 2010; PAGELS et al., 2020; BARREIRO-VESCOVO; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ; GODOS, 2021). Os principais pigmentos carotenoides encontrados nas microalgas são o β -caroteno, a luteína e a astaxantina (MARKOU; NERANTZIS, 2013).

O conteúdo de carotenoides na biomassa de algas é dependente das condições de cultivo, sendo os secundários acumulados em maiores quantidades quando sob condições de estresse (MARKOU; NERANTZIS, 2013), que levam as células a se protegerem, armazenando carbono e energia (CEZARE-GOMES et al., 2019). Dentre as condições de estresse que potencializam a carotenogênese estão a alta intensidade luminosa, o estresse salino e a elevada temperatura (GOUVEIA et al., 1996; LEMOINE; SCHOEFS, 2010) e a deficiência nutricional (MARKOU; NERANTZIS, 2013; CEZARE-GOMES et al., 2019).

As microalgas são consideradas reservatórios naturais de carotenoides, entre elas as cepas da família Chlorophyceae, como por exemplo as algas *Dunaliella salina* e *Chlorella vulgaris* (KARLA; GAUR; GOEL, 2021), pois armazenam estes compostos em sua biomassa e podem ser cultivadas em diferentes meios, entre eles as águas residuárias. As águas residuárias podem ser usadas como meios de cultivos, seja de maneira direta ou em composição de misturas, gerando o estresse necessário para estimular a produção dos carotenoides (RAMANNA et al., 2014; SUN et al., 2018). Diversos estudos avaliaram as condições de produção de carotenoides em microalgas a partir de seu cultivo em águas residuárias,

abrangendo tipologias distintas de efluentes e variadas espécies de microalgas. A Tabela 2 apresenta alguns destes estudos, seus resultados e considerações.

Tabela 2 - Produção de carotenoides por microalgas em águas residuárias.

Espécie de microalga	Água residuária	Teor de carotenoides	Pigmentos encontrados	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Arthrospira platensis</i>	Águas residuais de tofu	72,20 mg/L	NR	Ajjjah et al. (2020)
<i>Botryococcus braunii</i>	Esgoto doméstico	442 mg/L	Clorofila- α Clorofila- β	Raj GP et al. (2015)
<i>Chlamydomonas acidophila</i>	Esgoto doméstico	7,4 mg/L	Luteína Zeaxantina	Cuaresma et al. (2011)
<i>Chlorella sp.</i> <i>Spirulina sp.</i>	Esgoto doméstico	4,1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 3,4 $\mu\text{g}/\text{g}$	β -caroteno	Johnson (2010)
<i>Chlorella sp.</i>	Água residuária rural	NR	Astaxantina	Aray-Andrade et al. (2019)
<i>Dunaliella salina</i>	Industrial	4,83 mg/g	β -caroteno Zeaxantina Violaxantina Luteína	Safafar et al. (2015)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Industrial + Esgoto doméstico	NR	β -caroteno Luteína	De Francisci et al. (2018)
<i>Scenedesmus</i>	Esgoto doméstico	2,9 $\mu\text{g}/\text{mg}$	β -caroteno Astaxantina Luteína	Johnson (2010)

*NR – Não reportado. Fonte: Adaptado de Kalra, Gaur e Goel (2021).

Com o objetivo de usar as águas residuárias de tofu, alimento amplamente consumido na Indonésia, como meio de cultivo para *Chlorella vulgaris* e *Arthrospira platensis*, Ajjjah et al. (2020) conduziram um experimento diluindo este efluente em 3, 5 e 10% de volume, encontrando teores de carotenoides entre 1,16 mg/L a 72,20 mg/L, sendo este último obtido na diluição de 10%. Cuaresma et al. (2011) cultivaram a microalga *Chlamydomonas acidophila* em esgoto doméstico com diferentes fontes de carbono (CO₂, glicose, glicerol, amido, ureia e glicina), observando o acúmulo de compostos de elevado valor agregado, entre eles os carotenoides. Os autores encontraram maiores produtividades quando utilizado o crescimento

mixotrófico em ureia e relativa abundância de produção de luteína e zeaxantina, que são carotenoides secundários produzidos sob efeito de estresse.

Objetivando o uso de águas residuárias industriais para o cultivo de microalgas como fonte de antioxidantes naturais, entre eles compostos de carotenoides, Safafar et al. (2015) avaliaram a produtividade de antioxidantes em seis diferentes classes de microalgas. Foram reportados teores de 4,83 mg/g de carotenoides, subdivididos entre β -caroteno, zeaxantina, violaxantina e luteína, estabelecendo a microalga *Desmodesmus* sp. como uma fonte potencialmente rica em antioxidantes naturais (sobretudo a luteína). De Francisci et al. (2018) avaliaram o cultivo contínuo de *Chlorella sorokiniana* em reatores de escala laboratorial visando o tratamento de misturas de efluentes industriais com esgotos domésticos. Ao final do experimento foi caracterizada a biomassa seca em termos de proteínas, lipídios e pigmentos e foram encontradas produções médias de 1,03 mg/g de luteína e 0,44 mg/g de β -caroteno.

5. REFERÊNCIAS

- ABDO, S. M. et al. Preliminary economic assessment of biofuel production from microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 55, p. 1147- 1153, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.119>
- ABREU, A. P. et al. A comparison between microalgal autotrophic growth and metabolite accumulation with heterotrophic, mixotrophic and photoheterotrophic cultivation modes. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 159, p. 112247, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112247>
- AJIAH, N. et al. Utilization of tofu wastewater as a cultivation medium for *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis*. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/483/1/012027>
- ALI, S. et al. Resource recovery from industrial effluents through the cultivation of microalgae: A review. **Bioresource technology**, v. 337, p. 125461, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125461>
- AL-MOHAMMEDAWI, H. H.; ZNAD, Hussein. Impact of metal ions and EDTA on photofermentative hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* using a mixture of pre-treated brewery and restaurant effluents. **Biomass and bioenergy**, v. 134, p. 105482, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105482>
- AMDE, M.; LIU, J.; PANG, L. Environmental application, fate, effects, and concerns of ionic liquids: a review. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 21, p. 12611-12627, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03123>
- ANANTHI, V. et al. Impact of abiotic factors on biodiesel production by microalgae. **Fuel**, v. 284, p. 118962, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118962>

ARAY-ANDRADE, M. et al. Characterization of three algal strains used as tertiary treatment for rural wastewater of *Ecuadorian Littoral*. In: **European Biomass Conference and Exhibition Proceedings, Lisbon, Portugal**. p. 241-248. 2019.

ASAKAWA, C. et al. Phytotoxicity and fate of 1, 1, 2-trichloroethylene: A laboratory study. **Journal of chemical ecology**, v. 29, n. 6, p. 1329-1335, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1024205201720>

ASSIS, L. R. et al. Microalgal biomass production and nutrients removal from domestic sewage in a hybrid high-rate pond with biofilm reactor. **Ecological engineering**, v. 106, p. 191-199, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.05.040>

AVALOS, J.; LIMÓN, M. C. Biological roles of fungal carotenoids. **Current Genetics**, v. 61, n. 3, p. 309-324, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00294-014-0454-x>

BARREIRO-VESCOVO, S; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C; GODOS, I. Characterization of communities in a microalgae-bacteria system treating domestic wastewater reveals dominance of phototrophic and pigmented bacteria. **Algal Research**, v. 59, p. 102447, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102447>

BOLONHESI, I. B. T. M. et al. Formaldehyde biodegradation in an ASBR-SBR system: an effective treatment solution for furniture industry painting booth wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, n. 4, p. 3075-3086, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03276-4>

BOLONHESI, I. B. T. M; LOPES, D. D.; PRATES, K. V. M. C. Diagnóstico ambiental no processo produtivo de indústrias moveleiras de pequeno porte. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 9, n. 2, p. 320-334, 2017. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.002.0026>

BRAINER, M. S. de C. P. **Setor Moveleiro: Aspectos gerais e tendências no Brasil e na área de atuação do BNB**. 2018.

CEZARE-GOMES, E. A. et al. Potential of microalgae carotenoids for industrial application. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 188, n. 3, p. 602-634, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02945-4>

CHÁVEZ-CROOKER, P.; OBREQUE-CONTRERAS, J. Bioremediation of aquaculture wastes. **Current opinion in Biotechnology**, v. 21, no. 3, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.04.001>

CHEIRSILP, B; MANEECHOTE, W. Insight on zero waste approach for sustainable microalgae biorefinery: Sequential fractionation, conversion and applications for high-to-low value-added products. **Bioresource Technology Reports**, p. 101003, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101003>

CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: high value products perspectives. **Bioresource technology**, v. 229, p. 53-62, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>

- CHOI, W. et al. Effects of methanol on cell growth and lipid production from mixotrophic cultivation of *Chlorella* sp. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 16, n. 5, p. 946-955, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12257-010-0394-3>
- CHOU DHURY, N. K.; BEHERA, R. K. Photoinhibition of photosynthesis: role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. **Photosynthetica**, v. 39, n. 4, p. 481-488, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1015647708360>
- COOPER, G. Transport of small molecules. **The Cell: A Molecular Approach**. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2000.
- COUTO, E. A. et al. Influence of solar radiation on nitrogen recovery by the biomass grown in high rate ponds. **Ecological Engineering**, v. 81, p. 140-145, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.040>
- COUTO, E. et al. Evaluation of high rate ponds operational and design strategies for algal biomass production and domestic wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 791, p. 148362, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148362>
- COUTO, E.; CALIJURI, M. L.; ASSEMAN Y, P. Biomass production in high rate ponds and hydrothermal liquefaction: Wastewater treatment and bioenergy integration. **Science of The Total Environment**, v. 724, p. 138104, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138104>
- CRAGGS, R. et al. High rate algal pond systems for low-energy wastewater treatment, nutrient recovery and energy production. **New Zealand Journal of Botany**, v. 52, n. 1, p. 60–73, 2014. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2013.861855>
- CUARESMA, M. et al. Productivity and selective accumulation of carotenoids of the novel extremophile microalga *Chlamydomonas acidophila* grown with different carbon sources in batch systems. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 1, p. 167-177, 2011. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0841-3>
- D’ALESSANDRO, E. B.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 832-841, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.162>
- DE FRANCISCI, D. et al. Evaluation of microalgae production coupled with wastewater treatment. **Environmental technology**, v. 39, n. 5, p. 581-592, 2018. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1308441>
- DE LIMA, E. G.; DA SILVA, D. A. Resíduos gerados em indústrias de móveis de madeira situadas no pólo moveleiro de Arapongas-PR. **Floresta**, v. 35, n. 1, 2005. <http://dx.doi.org/10.5380/rf.v35i1.2434>
- DIAS, G. et al. Biorremediação de efluentes por meio da aplicação de microalgas-uma revisão. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 891-899, 2019. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170393>
- EL JAY, A. Toxic effects of organic solvents on the growth of *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 57, n. 2, p. 191-198, 1996. <https://doi.org/10.1007/s001289900174>

EL SHENAWY, E. A. et al. kumar Sadasivuni, K., and Thakar, N.," Effect of Cultivation Parameters and Heat Management on the Algae Species Growth Conditions and Biomass Production in a Continuous Feedstock Photobioreactor,". **Renew. Energy**, v. 148, p. 807-815, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.10.166>

EL-SHEEKH, M. M. et al. The efficient role of algae as green factories for nanotechnology and their vital applications. **Microbiological Research**, p. 127111, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127111>

FERREIRA, W. F.C.; SOUSA, C. F.; **Microbiologia**. Volume 1, Lidel – Edições Técnicas, Lda; ISBN: 978-972-757-024-9; Lisboa, 1998.

GARFÍ, M.; FLORES, L.; FERRER, I. Life cycle assessment of wastewater treatment systems for small communities: activated sludge, constructed wetlands and high rate algal ponds. **Journal of Cleaner Production**, v. 161, p. 211-219, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.05.116>

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403- 415, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>

GONDI, R et al. Wastewater based microalgae valorization for biofuel and value-added products recovery. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 53, p. 102443, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2022.102443>

GOUVEIA, L. et al. Evolution of the pigments in *Chlorella vulgaris* during carotenogenesis. **Bioresources Technology**, v. 57, p. 157-163, 1996. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00058-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00058-2)

GRODOWSKA, K.; PARCZEWSKI, A. Organic solvents in the pharmaceutical industry. **Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research**, v. 67, n. 1, 2010.

GUPTA, P.; DIWAN, B. Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: a review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. **Biotechnology Reports**, v. 13, p. 58-71, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.006>

HUNT, R. W. et al. Effect of biochemical stimulants on biomass productivity and metabolite content of the microalga, *Chlorella sorokiniana*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 8, p. 2400-2414, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9012-2>

IKARAN, Z. et al. The effect of nitrogen limitation on the physiology and metabolism of *Chlorella vulgaris* var L3. **Algal Research**, v. 10, p. 134-144, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.023>

JOHNSON, H. E. **Co-utilisation of microalgae for wastewater treatment and the production of animal feed supplements**. Tese de Doutorado. Rhodes University. 2010.

KACZALA, F.; MARQUES, M.; HOGLAND, W. Biotreatability of wastewater generated during machinery washing in a wood-based industry: COD, formaldehyde and nitrogen removal. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p. 8975-8983, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.122>

KALRA, R.; CONLAN, X. A.; GOEL, M. Fungi as a potential source of pigments: harnessing filamentous fungi. **Frontiers in chemistry**, v. 8, p. 369, 2020. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00369>

KALRA, R.; GAUR, S.; GOEL, M. Microalgae bioremediation: A perspective towards wastewater treatment along with industrial carotenoids production. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101794, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101794>

KÄMÄRÄINEN, J. et al. Physiological tolerance and stoichiometric potential of cyanobacteria for hydrocarbon fuel production. **Journal of biotechnology**, v. 162, n. 1, p. 67-74, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.07.193>

KHOR, W. H. et al. Microalgae Cultivation in Offshore Floating Photobioreactor: State-of-the-Art, Opportunities and Challenges. **Aquacultural Engineering**, p. 102269, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2022.102269>

KRAVCHENKO, G. A.; PASQUALETTO, A.; FERREIRA, E. de M. Aplicação de princípios da ecologia industrial nas empresas moveleiras de Goiás. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 21, p. 283-294, 2016. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522016139073>

KURNIAWAN, S. B. et al. Potential of microalgae cultivation using nutrient-rich wastewater and harvesting performance by biocoagulants/bioflocculants: Mechanism, multi-conversion of biomass into valuable products, and future challenges. **Journal of Cleaner Production**, p. 132806, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132806>

LEE, Y. K. et al. Algal nutrition: heterotrophic carbon nutrition. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology**, p. 116-124, 2004.

LEMOINE, Y; SCHOEFS, B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. **Photosynthesis research**, v. 106, n. 1, p. 155-177, 2010. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9583-3>

LIANG, K. et al. Effect of phosphorus on lipid accumulation in freshwater microalga *Chlorella* sp. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 1, p. 311-318, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9865-6>

LIU, M. et al. Chemical fingerprinting of organic micropollutants in different industrial treated wastewater effluents and their effluent-receiving river. **Science of The Total Environment**, p. 156399, 2022a. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156399>

LIU, R. et al. Recovery of value-added products by mining microalgae. **Journal of Environmental Management**, v. 307, p. 114512, 2022b. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114512>

MADEIRA, M. S. et al. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. **Livestock Science**, v. 205, p. 111-121, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.020>

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 8, p. 1532-1542, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>

- MARTÍNEZ-PORCHAS, M. et al. Shrimp polyculture: a potentially profitable, sustainable, but uncommon aquacultural practice. **Reviews in Aquaculture**, v. 2, n. 2, p. 73-85, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01023.x>
- MATHEWS, M. M.; SISTROM, W. R. Function of carotenoid pigments in non-photosynthetic bacteria. **Nature**, v. 184, n. 4702, p. 1892-1893, 1959. <https://doi.org/10.1038/1841892a0>
- MATSUNAGA, T. et al. Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater. **Journal of Biotechnology**, v. 70, n. 1-3, p. 33-38, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00055-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00055-3)
- MEDEIROS, D. L. et al. Life cycle assessment in the furniture industry: the case study of an office cabinet. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 22, n. 11, p. 1823-1836, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11367-017-1370-3>
- MENDONÇA, H. V. et al. Microalgae in a global world: new solutions for old problems?. **Renewable Energy**, v. 165, p. 842-862, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.11.014>
- MIAZEK, K. et al. Effect of organic solvents on microalgae growth, metabolism and industrial bioproduct extraction: a review. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 7, p. 1429, 2017. <https://doi.org/10.3390/ijms18071429>
- MOKROSNOP, V. M. et al. Accumulation of α -tocopherol and β -carotene in *Euglena gracilis* cells under autotrophic and mixotrophic culture conditions. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 52, n. 2, p. 216-221, 2016. <https://doi.org/10.1134/S0003683816020101>
- MORAIS JUNIOR, W. G. et al. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735562>
- MORENO-GARCIA, L. et al. Optimization of the proportions of four wastewaters in a blend for the cultivation of microalgae using a mixture design. **Bioresource technology**, v. 283, p. 168-173, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.067>
- MUHAMMAD, G. et al. Microalgae biomass production: an overview of dynamic operational methods. **Microalgae biotechnology for food, health and high value products**, p. 415-432, 2020. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0169-2_13
- NAJAFABADI, H. A. et al. Effect of various carbon sources on biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* during nutrient sufficient and nitrogen starvation conditions. **Bioresource technology**, v. 180, p. 311-317, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.076>
- NASR, M.; ATEIA, M.; HASSAN, K. Modeling the effects of operational parameters on algae growth. In: **Algal Biofuels**. Springer, Cham, 2017. p. 127-139. https://doi.org/10.1007/978-3-319-51010-1_7
- NISAR, N. et al. Carotenoid metabolism in plants. **Molecular plant**, v. 8, n. 1, p. 68-82, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>
- OLIVEIRA, A. C. et al. *Scenedesmus obliquus* in poultry wastewater bioremediation. **Environmental technology**, 2018. <https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1488003>

- OLIVEIRA, Fábio Ribeiro; FRANÇA, Sergio Luiz Braga; RANGEL, Luís Alberto Duncan. Challenges and opportunities in a circular economy for a local productive arrangement of furniture in Brazil. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 135, p. 202-209, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.031>
- OSWALD, W. J. et al. Algae in waste treatment [with discussion]. **Sewage and Industrial Wastes**, v. 29, n. 4, p. 437-457, 1957. <https://www.jstor.org/stable/25033322>
- PAGELS, F. et al. Pigments from microalgae. In: **Handbook of Microalgae-Based Processes and Products**. Academic Press, 2020. p. 465-492. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818536-0.00018-X>
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource technology**, v. 102, n. 1, p. 35- 42, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>
- PEREIRA, S. F. L. et al. Nitrogen removal from landfill leachate by microalgae. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 11, p. 1926, 2016. <https://doi.org/10.3390/ijms17111926>
- RAJ GP, A. S. et al. *Botryococcus braunii* as a phycoremediation tool for the domestic wastewater recycling from cooum river, Chennai, India. **Journal of Bioremediation & Biodegradation**, v. 6, n. 294, p. 2, 2015. DOI: 10.4172/2155-6199.1000294
- RAMANNA, L. et al. The optimization of biomass and lipid yields of *Chlorella sorokiniana* when using wastewater supplemented with different nitrogen sources. **Bioresource technology**, v. 168, p. 127-135, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.064>
- RAMOS, T. S.; ASSEMANY, P. P.; ENSINAS, A. V. High Rate Algal Pond for Biomass Production and Nutrient Recovery from Wastewater Treatment Plant Effluent: Effect of Hydraulic Retention Time and Temperature. **Available at SSRN 4140053**. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4140053>
- RENAUD, S. M. et al. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture**, v. 211, n. 1-4, p. 195-214, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00875-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00875-4)
- RICHMOND, A. Growth characteristics of ultrahigh-density microalgal cultures. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 8, n. 6, p. 349-353, 2003. <https://doi.org/10.1007/BF02949278>
- RUIZ-MARTINEZ, A. et al. Mixed microalgae culture for ammonium removal in the absence of phosphorus: effect of phosphorus supplementation and process modeling. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 12, p. 2249-2257, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.09.002>
- SAFAFAR, H. et al. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. **Marine drugs**, v. 13, n. 12, p. 7339-7356, 2015. <https://doi.org/10.3390/md13127069>
- SALAMA, E. et al. El-Dalatony, I. I. Seung Yang, Booki Min, and Byong Hun Jeon. 2017. "Recent Progress in Microalgal Biomass Production Coupled with Wastewater Treatment

for Biofuel Generation.”. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 1189-1211. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.091>

SANTAEUFEMIA, S. et al. Bioremediation of oxytetracycline in seawater by living and dead biomass of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. **Journal of hazardous materials**, v. 320, p. 315-325, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.08.042>

SANTIAGO, A. F. et al. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. **Environmental technology**, v. 34, n. 13-14, p. 1877-1885, 2013. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812670>

SANTOS, A. R. L. et al. Caracterização e tratabilidade biológica dos efluentes líquidos gerados em cabines de pintura de uma indústria moveleira. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 15, p. 357-366, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522010000400008>

SARAVANAKUMAR, K. et al. Impact of industrial effluents on the environment and human health and their remediation using MOFs-based hybrid membrane filtration techniques. **Chemosphere**, p. 135593, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135593>

SCHERER, M. D. et al. Environmental study of producing microalgal biomass and bioremediation of cattle manure effluents by microalgae cultivation. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 19, n. 6, p. 1745-1759, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1361-x>

SHARMA, R. et al. Recent advances in microalgae-based remediation of industrial and non-industrial wastewaters with simultaneous recovery of value-added products. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126129, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126129>

SHEEHAN, J. et al. Look back at the US department of energy's aquatic species program: biodiesel from algae; close-out report. **National Renewable Energy Lab., Golden, CO.(US)**, 1998. <https://doi.org/10.2172/15003040>

SHEN, Q. et al. Effect of carbon source on biomass growth and nutrients removal of *Scenedesmus obliquus* for wastewater advanced treatment and lipid production. **Bioresource technology**, v. 190, p. 257-263, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.053>

SIDDIKI, S Y A et al. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: An integrated biorefinery concept. **Fuel**, v. 307, p. 121782, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>

SINGH, A. et al. Bioremediation and biomass production of microalgae cultivation in river water contaminated with pharmaceutical effluent. **Bioresource technology**, v. 307, p. 123233, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123233>

SINGH, S. P.; SINGH, P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 50, p. 431-444, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>

SIROHI, R. et al. Design and applications of photobioreactors-A review. **Bioresource technology**, p. 126858, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126858>

SPEROTTO, F. Q. Setor moveleiro brasileiro e gaúcho: características, configuração e perspectiva. **Indicadores Econômicos FEE**, v. 45, n. 4, p. 43-60, 2018.

STEPANOV, S. S.; ZOLOTAREVA, E. K. Methanol-induced stimulation of growth, intracellular amino acids, and protein content in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1509-1516, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0445-9>

STILES, W. A. V. et al. Using microalgae in the circular economy to valorise anaerobic digestate: challenges and opportunities. **Bioresource technology**, v. 267, p. 732-742, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.100>

SUBHASH, G. V. et al. Temperature induced stress influence on biodiesel productivity during mixotrophic microalgae cultivation with wastewater. **Bioresource technology**, v. 169, p. 789-793, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.019>

SUN, X. et al. Microalgae for the production of lipid and carotenoids: a review with focus on stress regulation and adaptation. **Biotechnology for biofuels**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2018. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1275-9>

SUTHERLAND, D. L. et al. Size matters—Microalgae production and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds of three different sizes. **Algal Research**, v. 45, p. 101734, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101734>

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, v. 53, p. 271-281, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.025>

TAYLOR, R. P.; JONES, C. LW; LAUBSCHER, Richard K. Empirical comparison of activated sludge and high rate algal ponding technologies used to recover water, nitrogen and carbon from brewery effluent. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101840, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101840>

THEREGOWDA, R. B. et al. Nutrient recovery from municipal wastewater for sustainable food production systems: an alternative to traditional fertilizers. **Environmental engineering science**, v. 36, n. 7, p. 833-842, 2019. <https://doi.org/10.1089/ees.2019.0053>

VAAJASAARI, K. et al. Hazardous properties of paint residues from the furniture industry. **Journal of hazardous materials**, v. 106, n. 2-3, p. 71-79, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.11.004>

VIEIRA, F. M.; DE BEM, J. S.; FERREIRA, R. H. da S. Risco ambiental e gestão pública ambiental dos dez municípios gaúchos de maior potencial poluidor das indústrias. **Revista Brasileira de Administração Científica**, v. 12, n. 1, p. 314-327, 2021. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-684X.2021.001.0026>

WANG, M. et al. Concept and types of bioremediation. In: **Handbook of Bioremediation**. Academic Press, 2021. p. 3-8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819382-2.00001-6>

WEAR, S. L. et al. Sewage pollution, declining ecosystem health, and cross-sector collaboration. **Biological Conservation**, v. 255, p. 109010, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109010>

XIE, B. et al. Blending high concentration of anaerobic digestion effluent and rainwater for cost-effective *Chlorella vulgaris* cultivation in the photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 360, p. 861-865, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.009>

YAHIA, E. M.; ORNELAS-PAZ, J. de J. Chemistry, stability, and biological actions of carotenoids. In: **Fruit and vegetable phytochemicals: Chemistry, nutritional value and stability**. Wiley-Blackwell, Ames, p. 177-222, 2010. <https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch15>

YEESANG, C.; CHEIRSILP, B. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. **Bioresource technology**, v. 102, n. 3, p. 3034- 3040, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.013>

ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 41, p. 1376-1384, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.040>

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 – DIFFERENT MIXTURES OF PAINT BOOTH EFFLUENT AND DOMESTIC SEWAGE: EFFECTS ON ALGAL GROWTH AND CAROTENOID PRODUCTION¹

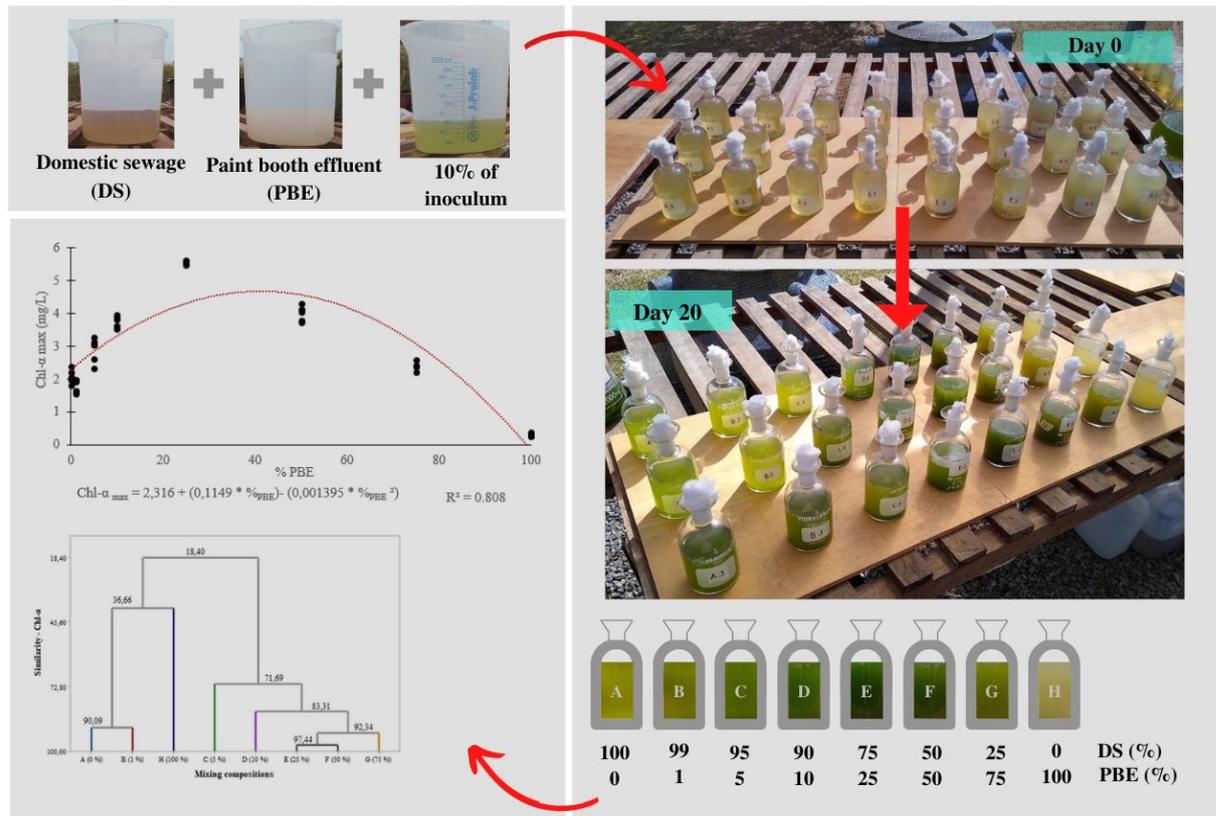
ABSTRACT

The painting booth effluent (PBE), generated during the process of painting and varnishing wooden furniture, has a high content of solvents and suspended solids and a low concentration of nutrients in its composition, acting as a potential water pollutant when improperly treated. This study aims to evaluate the effect of different mixtures of PBE with domestic sewage (DS), which is also produced in the furniture industry, on algae growth, as well as the feasibility of pigments production. So, optimal mixing between these effluents for chlorophyll- α and total carotenoid production was defined to overcome DS carbon limitation and PBE toxicity. The volumes of 25 and 50% PBE in the culture medium resulted in the highest yields of chlorophyll- α (3.0 and 2.3 mg/L, respectively) and total carotenoids (5.6 and 3.9 mg/L, respectively). The optimal proportion of PBE was close to 40% (v/v), with PBE providing carbon while DS provides nitrogen and phosphorus, optimizing the nutritional ratio to algal growth. Regression analysis suggests that PBE volumes above 40% (v/v) could inhibit algae growth, associated with lower nutrient availability and solvent toxicity. Therefore, it is possible to cultivate microalgae in PBE, especially when mixed with DS, which allows the adoption of a single, simple, and biological treatment system for both effluents produced within the furniture industries.

KEYWORDS: Industrial effluent; Blending experiment; Microalgal cultivation; Pigments; Algae by-products; Optimization of treatments.

¹ Paper submitted to International Journal of Environmental Science and Technology (ISSN: 1735-2630). First revision submitted in August 12, 2022. Status in March 10, 2023: Under Review.

GRAPHICAL ABSTRACT



Fonte: Do autor (2023).

HIGHLIGHTS

1. A blend design was performed to evaluate microalgae cultivation
2. Paint booth effluent (PBE) was used as C source and domestic sewage as N and P
3. Different concentrations of PBE shaped the production of carotenoids by algae
4. High volumes of PBE in the mixture impair algae growth
5. 40% PBE stimulates greater production of chlorophyll- α and total carotenoids

1 - INTRODUCTION

Stages of receiving, cutting, painting, and packaging of wooden furniture production generate a variety of by-products with significant potential pollution. Among the residues are plastics, paper, sawdust, particulate dust in suspension, and the effluent from the painting and finishing processes (Oliveira et al. 2018). The painting and finishing of the furniture occur inside a paint booth, which has a water curtain that captures the droplets dispersed in the air and

keeps the contaminants in their composition, generating the paint booth effluent (PBE) (Vaajasaari 2004). This effluent can cause damage to the environment and is composed of high levels of total solids and organic matter, low content of macronutrients, and the presence of toxic substances such as metals and solvents (Bolonhesi et al. 2022).

According to the physical and chemical characteristics of PBE, its treatment and environmentally correct disposal are obstacles. PBE is not continuously generated (Bolonhesi et al. 2022) and are usually improperly discharged in the domestic sewage collection network, interfering with the treatment efficiency of municipal stations or polluting the water bodies. Currently, the physicochemical treatment by coagulation and flocculation has been applied to reduce the polluting loads of PBE. However, this technology has some limitations, such as inefficient neutralization of toxic compounds (Santos et al. 2010), high consumption of chemical products, and generation of a complex sludge that is difficult to handle.

Microalgae biotechnology may be an interesting treatment alternative, providing biomass production and effluent bioremediation with the removal of nutrients, organic matter, and toxic organic compounds (Abdel-Raouf et al. 2012; Santiago et al. 2013; Sutherland et al. 2020). Microalgae are fast-growing microorganisms capable of using water, sunlight, and carbon dioxide (CO₂) to synthesize biomass. They can easily grow in different culture media and bioreactors aimed at cultivating algal biomass concomitant with effluent treatment (Couto et al. 2020).

The association with heterotrophic bacteria optimizes microalgae bioremediation capacity. Photosynthesis carried out by algae produces oxygen demanded by bacteria during the organic matter degradation, which, in turn, releases CO₂ and converts nutrients from the environment to be assimilated by algae (Santiago et al. 2013; Abdo et al. 2016). This symbiotic relationship helps the effluent treatment through nutrient recovery and avoids eutrophication of the receiving bodies (Craggs et al. 2014; Gonçalves et al. 2017). Microalgae are also studied due to their high biotechnological potential and nutritional value. The biomass has considerable concentrations of biochemical compounds, such as lipids, proteins, carbohydrates, and vitamins, in addition to industrial interest biomolecules, such as fatty acids, sterols, phycobiliproteins, and chlorophylls (Kalra et al. 2021).

Among the algae value-added by-products, carotenoids are highlighted, which are pigments with primary and secondary functions. The primary is responsible for light capture, absorbing light energy, and transferring it to chlorophylls (Nisar et al. 2015). The secondary carotenoids have a photoprotection function, helping the algae to survive under environmental

stress conditions, such as light intensity, high temperature, and nutritional deficiency (Lemoine and Schoefs 2010; Kalra et al. 2021). Carotenoids have a variety of commercial uses and can be applied in pharmaceuticals, animal feed, personal care products, and cosmetics (Kalra et al. 2021).

Several authors (Kämäräinen et al. 2012; Wu et al. 2014; Aruoja et al. 2014; Mokrosnop et al. 2016; Miazek et al. 2017) have evaluated the microalgae growth in synthetic culture media containing solvents and aromatic compounds and demonstrated that solvents could interfere with cultivation and favor the production of valuable compounds. However, the literature lacks studies that evaluated algal growth and its effects on effluents generated during the furniture industrial production process, as a non-synthetic medium, with nutritional complementation by using domestic effluent, a well-known carbon deficient medium. Thus, the present manuscript seeks to fill this gap, using PBE as an unprecedented culture medium for microalgae. The main objective was to evaluate the effect of different mixtures of PBE from a furniture industry and domestic sewage (DS) on algal growth and total carotenoid accumulation. Also, it evaluates a potential solution for effluent bioremediation within the industrial plant, establishing an optimal mixture between PBE and DS.

2 - MATERIAL AND METHODS

2.1 – Effluents

Microalgae culture medium was composed of the combination of two types of effluents: PBE and DS. The first effluent was obtained from a furniture industry in the micro-region of Ubá (21°07'59"S, 42°51'00"W) in the state of Minas Gerais, Brazil, which was produced during the painting process of wood material. The second effluent was collected in a domestic sewage treatment plant (20°46'49.6"S, 42°53'00.5"W), in Viçosa, state of Minas Gerais, Brazil, after primary treatment in a septic tank.

The Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA 2012) was used to characterize the effluents according to the following variables: total Kjeldahl nitrogen (TKN), nitrate (NO₃⁻), total phosphorus (P), total chemical oxygen demand (COD) and suspended solids (total suspended solids – TSS and volatile suspended solids – VSS). Total organic carbon (TOC), total carbon (TC), and inorganic carbon (IC) were quantified by Shimadzu TOC 5000 analyzer. In the PBE, volatile organic compounds and solvents were analyzed according to the USEPA-8260B methodology.

2.2 – Experimental unit and blending design

The experiment was performed inside a greenhouse from June 20 to July 20, 2021. It was composed of two main stages: (i) microalgae inoculum production and (ii) blending experiment (Fig. 1).

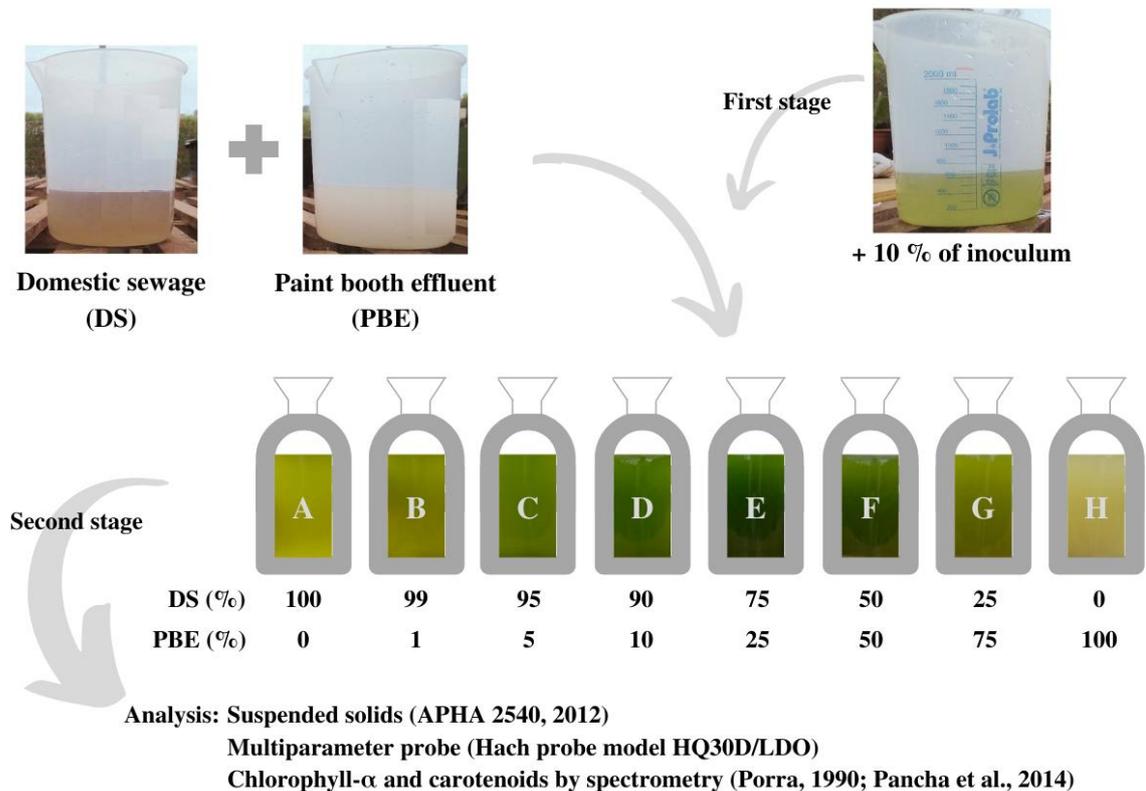


Fig. 1 - Flowchart of experiment preparation and setup. Source: Author (2023).

Microalgae inoculum was done in a 1L Erlenmeyer flask, where 600 mL of DS was added, and the growth of indigenous microalgae was observed. The growth was monitored by reading the absorbance at four different wavelengths (480, 665, 680, and 750 nm) in a spectrophotometer (HACH DR 3800) together with visual observations. The inoculum was considered ready when the absorbance was 3x higher compared to the beginning of the analysis.

In the blending experiment, 8 different effluent mixing treatments were evaluated in triplicate (Fig. 1). In all treatments, 40 mL of inoculum were added, corresponding to 10% of the culture medium volume. Different proportions of PBE (v/v) were evaluated. Treatments were based on the culture medium total volume (400 mL) and varied according to PBE percentage in the medium (from 0 to 100%), with the remaining volume completed with DS. The treatments were: A (0% PBE), B (1% PBE), C (5% PBE), D (10% PBE), E (25% PBE), F (50% PBE), G (75% PBE) and H (100% PBE).

2.3- Experiment monitoring

The blending experiment was performed in batch mode, and the monitored variables (Table 1) were: volatile suspended solids (VSS), pH, culture medium temperature (TEMP), dissolved oxygen (DO), and oxygen saturation (SAT). Furthermore, total carotenoids and chlorophyll- α (chl- α) were quantified. The environmental condition of air temperature was obtained by the meteorological station of the National Institute of Meteorology (INMET) located near the experiment site. Photosynthetically active radiation (PAR) inside the greenhouse was measured daily, between 11:00 and 13:00, with the LI-COR LI-1500 Light Sensor Logger radiometer. More details about environmental conditions are presented in the supplementary material (Fig. S1). The experimental batch was stopped when a decrease in chl- α concentration was observed in the absolute majority (half plus one) of the treatments.

Table 1 – Analyzes, periodicity, and methodology.

Variables	Periodicity	Methodology
VSS	Start and end	APHA (APHA, 2012), 2540
pH	Daily	Hach probe model HQ30D/LDO
TEMP	Daily	Hach probe model HQ30D/LDO
DO	Daily	Hach probe model HQ30D/LDO
SAT	Daily	Hach probe model HQ30D/LDO
Total carotenoids	Every two days	(Pancha et al., 2014; Porra, 1990)
chl- α	Every two days	(Pancha et al., 2014; Porra, 1990)

Source: Author (2023).

The phytoplankton community was characterized in the inoculum and at the end of the batch for each treatment. Samples of 10 mL were collected and preserved in 4% formaldehyde solution. Density analyses were performed by identifying morphological characters (Utermohl 1958) and using specific references and online databases (Algaebase - <https://www.algaebase.org/>). Genus level identification was performed, and the species were identified for the dominant genera.

2.4- Statistical analysis

Simple linear regression and cluster analyses were performed using the R programming language (R version 4.0.5). For regression, curves were generated for different mixtures and the maximum concentrations of the response variables (chl- α and carotenoids). A statistical significance of 5% was considered, in addition to carrying out significance tests for equation

coefficients (p -value < 0.05). For cluster analysis, data were organized into columns, each representing a response variable of the mixture treatment, and these columns were used to verify the similarity between the clusters and to dendrogram construction. This tool was applied to the chl- α and carotenoid variables, and a similarity level of 80% was considered for group construction. Other statistical analyses were variance analysis (ANOVA) and Tukey's test performed in the R programming language at 5% significance.

3 - RESULTS AND DISCUSSION

3.1- Effluent's characterization

PBE is produced during the furniture manufacturing process, and it is characterized by a high concentration of organic matter (COD up to 10,500 mg/L) and solids (TSS and VSS of 2,850 mg/L and 1,170 mg/L, respectively), low nutrient contents (0.7 mg/L of total P and 12.7 mg/L of TKN) and the presence of solvents and formaldehydes (Bolonhesi et al. 2022). The PBE of the present study presented 0.7 mg/L of total P; 3.1 mg/L TKN; 1,715 mg/L of total COD, and 326.1 mg/L of TC (of these, 271.8 mg/L are in the organic fraction, corresponding to 83%), which corroborates the results found by Bolonhesi et al. (Bolonhesi et al. 2022).

Vaajasaari (2004) identified the presence of toluene, ranging from 40 to 58000 $\mu\text{g/L}$, ethylbenzene (from 200 to 7700 $\mu\text{g/L}$), xylenes (from 600 to 39000 $\mu\text{g/L}$), and aromatic hydrocarbon solvents (from 300 to 10000 $\mu\text{g/L}$) in effluents from 4 different paint booths. In the present study, the PBE was composed of dichloromethane (9.43 $\mu\text{g/L}$), ethylbenzene (259.78 $\mu\text{g/L}$), m,p-xylenes (670.96 $\mu\text{g/L}$), o-xylene (765.89 $\mu\text{g/L}$), toluene (1,681 $\mu\text{g/L}$) and xylene (1,440 $\mu\text{g/L}$), values that are in agreement with previous results (Vaajasaari 2004).

For DS previously treated in a septic tank, the characterization results were 588.8 mg/L of total COD, 122 mg/L of TC (36.2 mg/L in the organic fraction, TOC), 6.8 mg/L of total P, and 106.7 mg/L of TKN. These results are validated by Assis et al. (2019), that reported COD of 234 mg/L, 87.8 mg/L of TKN, and 12.3 mg/L of soluble P for the same effluent. DS showed lower concentrations of organic matter and higher values for TKN and P than the PBE.

The effluents characterization makes evident the nutritional and organic load difference between both effluents, indicating the need for nutrient supplementation of the PBE so that it can be biologically treated, for example, via microalgae biotechnology. The addition of DS can meet these nutritional requirements, resulting in an economically attractive alternative.

3.2- Influence of mixture treatments on algal growth

Effluent mixing has already been reported in the literature to adjust nutrient concentration in the culture medium and optimize algal biomass productivity. Moreno-Garcia et al. (2019) evaluated the mixture of 4 different wastewaters (digested effluent, landfill leachate, effluent from a sludge treatment plant, and effluent from a sewage treatment plant) to obtain the best proportion for optimizing biomass productivity. The best results were obtained in a mixture of 19% treated sewage, 21% digested, and 60% natural water, reaching 22.76 mg/L.day of productivity.

Liu et al. (2022) stated that the ideal nutritional ratio (carbon: nitrogen: phosphorus – C:N:P) for microalgae growth is 100:18:1. The analyzed effluents had different nutrient ratios among themselves and far from the ideal, being 466:4:1 for PBE and 18:16:1 for DS. The different mixtures provided different nutritional ratios. Thus, C:N:P ratios of the mixtures were 18:16:1 for A and B, 20:16:1 for C, 23:16:1 for D, 33:15:1 for E, 60:15:1 for F, 124:13:1 for G and 466:4:1 for H. G mixture, with 75% PBE, was the mixture that comes closest to the ideal ratio.

The experimental batch lasted 19 days. Figure 2 shows the variations in pH, DO, chl- α , and total carotenoids for the 8 treatments throughout the experiment.

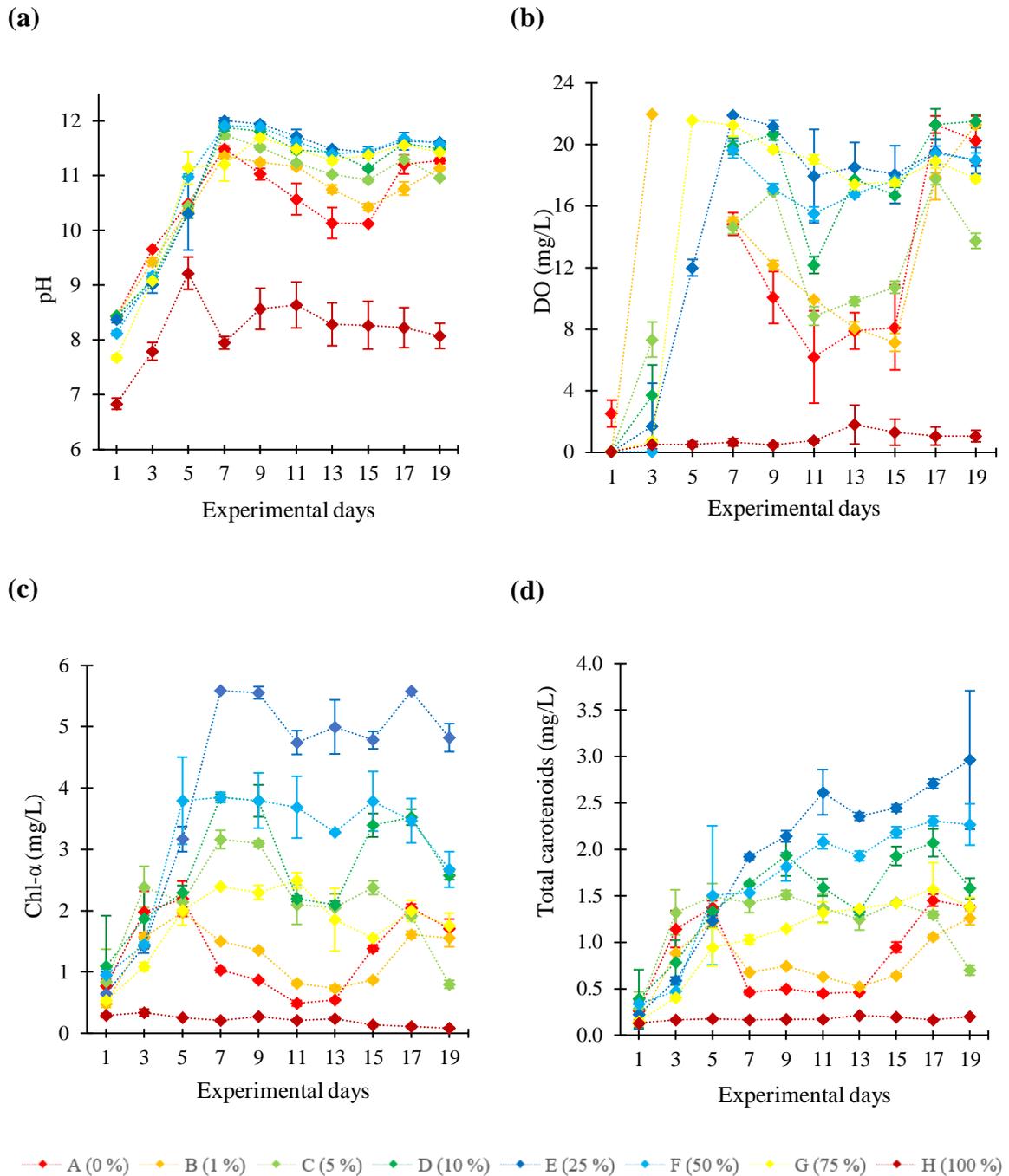


Fig. 2 – Variation of (a) pH, (b) DO, (c) chl- α and (d) total carotenoids throughout the experiment (vertical bars represent the standard deviation, $n=3$). DO = dissolved oxygen; chl- α = chlorophyll- α . Source: Author (2023).

The pH values of 7 of the 8 mixture treatments ranged from ~8 to ~12 in the first 7 days of the experiment (Fig. 2a), which indicates a microalgal development since the presence of algae and their photosynthetic activity cause a shift in the balance of inorganic carbon present in the medium (Couto et al. 2018). Contrary, the pH (around 8) and chl- α values of the H

treatment (100%) remained lower than the other treatments. As this treatment consisted only of PBE, this result may be related to a possible deficiency in meeting microalgae' nutritional requirements and solvents toxicity.

The greatest increase in pH occurred in mixture G, followed by mixtures E and F, then A, B, and D, later by mixture C, and, finally, mixture H ($p < 0.05$). These results show that mixtures between 25 and 75% PBE resulted in a higher pH increment due to higher photosynthetic activity during algal development. So, compared to other treatments, the mixing ratio of treatments G, E, and F were more adequate to optimize microalgae nutrients absorption from DS and, concomitantly, carbon from organic solvents (Miazek et al. 2017).

During photosynthesis, algae consume the inorganic carbon and release oxygen (Couto et al. 2018), that is dissolved in the aqueous environment. High DO productions were observed in the experiment, with values close to 20.0 mg/L, and in some cases, 300% of supersaturation was obtained, exceeding the detection limit (Fig. 2b). The high DO production can be linked to the presence of algae and their photosynthesis process (Agostinho et al. 2021). Thus, as observed for pH, the DO values in the H treatment (100%) were kept below 2 mg/L, indicating low algal growth compared to the other treatments (statistically different, $p < 0.05$), highlighting, again, the need for nutritional supplementation.

Chlorophylls are pigments produced by algae that have, above all, the function of capturing light for the photosynthesis process. Mixture E was the largest producer of chl- α ($p < 0.05$), reaching maximum concentrations close to 6.0 mg/L, followed by mixtures D and F, with maximum concentrations close to 4.0 mg/L (Fig. 2c). Couto et al. (2015) evaluated the effect of light intensity in high-rate ponds during DS treatment and observed chl- α concentrations close to 7.0 mg/L (Couto et al. 2015). Assemany et al. (2016) reported chl- α values of up to 2.8 mg/L when using effluent from the meat processing industry as a culture medium. In conditions closer to those of the present study, Hunt et al. (2010) obtained values close to 5.0 mg/L of chl- α while evaluating the effects of methanol as a possible carbon source for the algal culture (Kotzabasis et al. 1999).

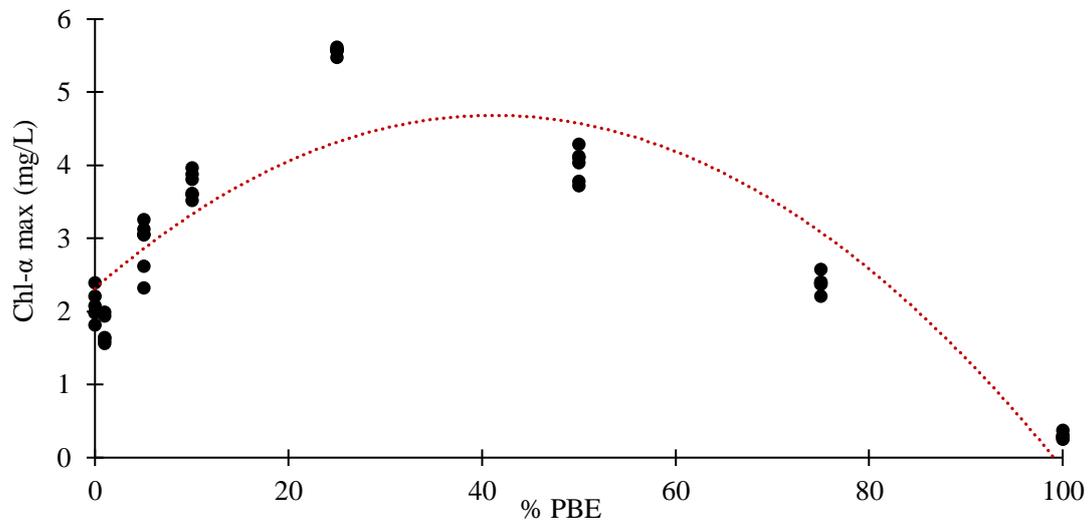
Productions of chl- α of the mixtures C, D, E, and F (from 5 to 50% of PBE) were higher than the conditions in which the DS was alone (A) and also with 100 % PBE (H). Thus, the mixtures enhanced microalgae production, with nutrient ratios closer to the ideal, differently from the 100% PBE condition. Wang et al. (2020) studied microalgae cultivation in mixtures of 2 swine wastewaters and reported values up to 40x higher in mixtures when compared to

effluents used alone (Wang et al. 2020). Thus, the study reinforces the possibility of obtaining high production of chl- α , mainly due to the nutritional and stress faced by microalgae.

Total carotenoid concentrations (Fig. 2d) followed the same pattern as chl- α concentrations. At the end of the batch operation, the highest value of this compound was observed in mixture E (2.96 mg/L), followed by F (2.27 mg/L) and D (1.58 mg/L). Treatment H had the lowest concentration of carotenoids (0.21 mg/L). Mixtures A, B, C (with the lowest proportions of PBE) and H (culture medium composed only of PBE) showed the lowest values of carotenoid production, indicating that an effluent with solvent and dissolved organic carbon may stimulate the production of this compound. Also, the co-cultivation with PBE rich in volatile organic compounds and solvents generates stress on microorganisms, which can positively influence the production of carotenoids (Liu et al. 2021). However, the PBE absence of nutrients negatively influenced the accumulation, resulting in low concentrations that did not exceed 0.5 mg/L of total carotenoids in the H condition. Úbeda et al. (2017) evaluated the production of total carotenoids by *Coelastrum cf. pseudomicroporum* in pure urban wastewater crops and mixtures with marine saline waters. Maximum production of 0.47 mg/L in the pure culture and 1.58 mg/L in the mixtures were observed, suggesting that the saline stress of marine waters stimulates the accumulation of protective carotenoids (Úbeda et al. 2017).

Fig. 3a shows the regression obtained for chl- α . At a significance level of 5%, the relationship between the response variable (chl- α) and the amount of PBE was statistically significant (p-value = 0.001), with an R^2 of 80.8%. Therefore, the adjusted equation for the quadratic model described the relationship between the amount of PBE in the mixture and chl- α concentration. A tendency of an improvement in the production of microalgae chl- α is observed with the increase of PBE, reflecting a stimulating effect of algal growth. However, after reaching the optimal value of 41.2% of PBE, the production decreases. When adding proportions greater than 41.2% of PBE, the culture medium presents toxicity to algae due to the greater presence of volatile organic compounds, despite the better nutritional balance presented by the G mixture, for example. Thus, solvents toxicity was decisive for algal growth inhibition in the G mixture. Also, for the H mixture, the toxicity was reinforced by the nutritional deficiency, specifically of N and P.

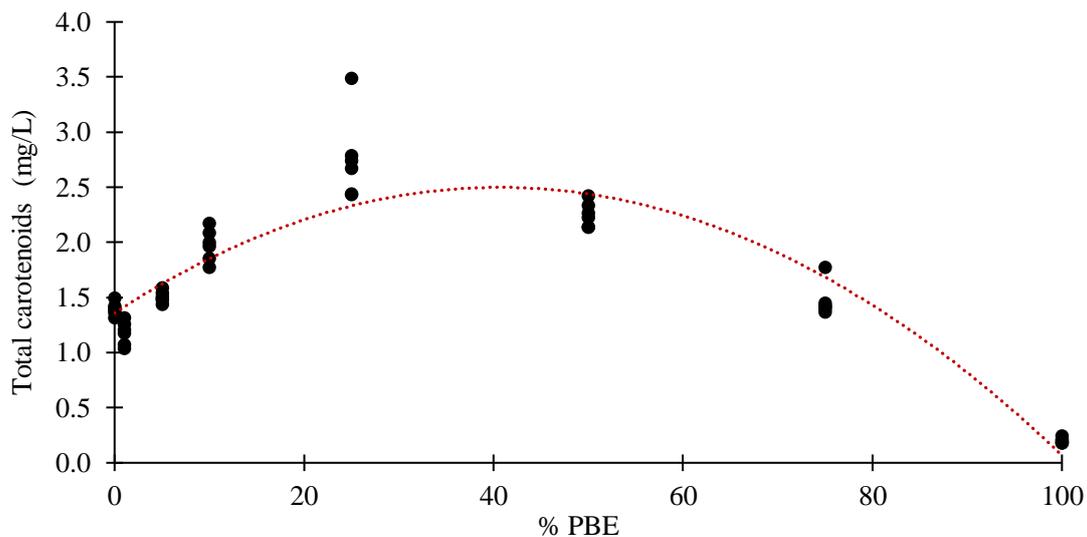
(a)



$$\text{Chl-}\alpha \text{ max} = 2.316^* + (0.1149 \times \% \text{PBE})^* - (0.001395 \times \% \text{PBE}^2)^*$$

$$R^2 = 0.808$$

(b)



$$\text{Carot} = 1.359^* + (0.05611 \times \% \text{PBE})^* - (0.000690 \times \% \text{PBE}^2)^*$$

$$R^2 = 0.871$$

Fig. 3 – Regression analysis for chl- α (a) and total carotenoids (b) as a function of different %PBE in the mixtures (n=3). *Significant at 5% level. Source: Author (2023).

Quadratic order regression for total carotenoids maximum concentration as a function of PBE mixture was also performed (Fig. 3b). The equation showed an R^2 of 87.1%, with almost 90% of the variations being explained by the amount of PBE in the mixture. Similar to what was found for chl- α , the regression shows that the increase in PBE content influences the

increase of carotenoid accumulation; however, from the point of optimal productivity (40.7% of PBE), the tendency is the production decrease.

Cluster analyzes were performed to establish the level of similarity between the chl- α and carotenoid data from the different mixtures (Fig. 4). The greater the similarity between the compositions, the more correlated the clusters are. Ideally, a high similarity level balances the groupings of mixture compositions. The results showed differences between the analyzed variables, both in chl- α production and in carotenoid production. For chl- α (Fig. 4a), the amalgamation steps indicated 7 distinct groups, while for total carotenoids (Fig. 4b), the similarity levels showed 6 groups.

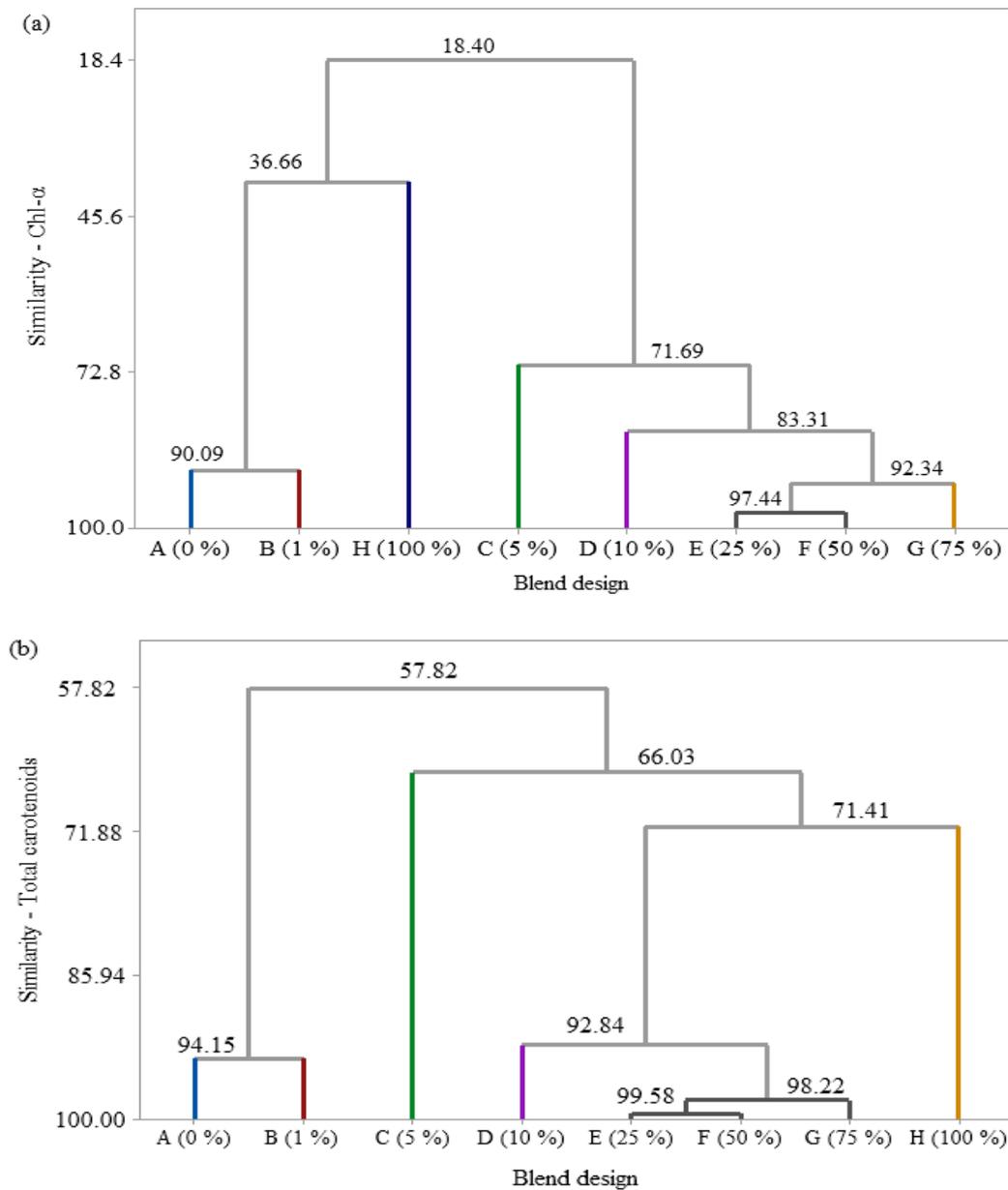


Fig. 4 – Dendrograms of the clusters formed for chl- α (a) and carotenoids (b) (colors represent the clusters, and the similarity levels between the groups are highlighted for each set). Source: Author (2023).

Fig. 4 corroborates the previous results, reinforcing that the maximum values obtained for chl- α and total carotenoids were found between mixtures E and F, which showed high levels of similarity, close to 100, and belonged to the same clusters. It was also evidenced that the mixture with 1% PBE was compatible with the culture medium only with DS (mixture A) and that 100% of PBE was different from all mixtures. From the cluster analysis, it was possible to

observe the interference of PBE addition in the medium for carotenoid production. For mixtures with concentrations above 5% PBE, the similarity was 66%. Mixtures with 10 and 75% of PBE with productions around 2.30 mg/L showed similarities greater than 90%.

The VSS content is associated with the organic fraction of solids present in the medium, and an increase may indicate the growth of microorganisms during cultivation, such as microalgae and bacteria, expressing the total biomass. Throughout the experiment, an increase in VSS concentrations was observed for most mixtures, except for G and H mixtures (Fig. 5).

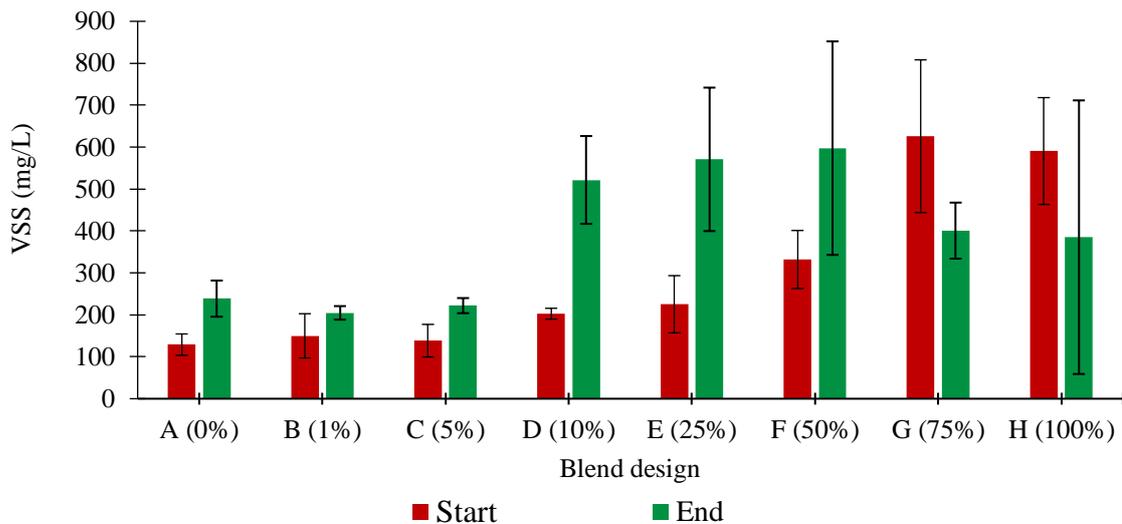


Fig. 5 – Mean values of volatile suspended solids content in the mixtures (vertical bars represent the standard deviation, n=3). Source: Author (2023).

The mixtures from A to F showed increased VSS content, ranging from 54.7 to 345.5 mg/L. Contrarily, G and H mixtures showed, from the beginning to the end of the experiment, a drop of about 200 mg/L in VSS concentration. Mixtures D, E, and F exhibited the highest VSS concentrations at the end of the experiment of 521.7, 570.8, and 597.5 mg/L, respectively, values approximately 2x higher than their initial concentrations. The VSS levels were higher than those reported by Santiago et al. (2013), that obtained average values of 152 mg/L and maximum values of approximately 250 mg/L for microalgae cultivation in DS. Therefore, PBE provided an increase in total biomass production, which may be related to a greater carbon supply to the microbial community.

Table 2 shows the average primary productivity yields, total biomass, and carotenoids results. Only the final productivity of the biomass harvested after 19 days was analyzed for VSS, with the highest yields of 28.5, 27.2, and 24.8 mg/L.day, referring to compositions F (50%), E (25%), and D (10%), respectively. These values were higher than the other mixtures

(0, 1, 5, 75, and 100%). These yields (in terms of total biomass) were lower than that obtained by Santiago et al. (2013) (38 mg/L.day) but higher than that obtained by Assis et al. (2017) (19.4 mg/L.day). In both studies, only DS was used as the culture medium.

Table 2 – Maximum and final concentrations and primary (chl- α), total (VSS), and carotenoid productivities.

Blends	Concentration (mg/L)						Productivity (mg/L.day)				
	Solids		Cart		chl- α		Max		Final		
	VSS _i	VSS _f	Max	Final	Max	Final	Cart	chl- α	VSS	Cart	chl- α
A (0%)	129.0	238.7	1.5	1.4	2.2	1.7	0.2	0.4	11.4	0.06	0.08
B (1%)	150.0	204.4	1.3	1.3	2.0	1.6	0.2	0.3	9.7	0.06	0.07
C (5%)	138.3	222.0	1.5	0.7	3.2	0.8	0.2	0.4	10.6	0.03	0.04
D (10%)	202.7	521.7	2.1	1.6	3.9	2.6	0.1	0.5	24.8	0.07	0.1
E (25%)	225.3	570.8	3.0	3.0	5.6	4.8	0.2	0.7	27.2	0.14	0.2
F (50%)	332.0	597.5	2.3	2.3	3.9	2.7	0.1	0.5	28.5	0.11	0.1
G (75%)	626.0	400.8	1.6	1.4	2.5	1.8	0.1	0.2	19.1	0.06	0.08
H(100%)	590.7	393.5	0.2	0.2	0.3	0.08	0.04	0.08	18.7	0.01	0.004

VSS_i – Initial Volatile Solids; VSS_f – Final Volatile Solids; chl- α – Chlorophyll- α ; Cart – total carotenoids; Max – Maximum. Source: Author (2023).

Regarding chl- α , the maximum primary productivity was reached in mixture E (0.70 mg/L.day). For the other mixtures, the values were around 0.40 mg/L.day, except for mixture H (100%), which presented a value of only 0.08 mg/L.day. Mixture E may have presented a higher value of primary productivity due to the combination of nutrient concentration provided by the DS and the effect of solvents as an organic carbon source (Miazek et al. 2017), stimulating growth and causing no toxicity (León et al. 2001). Maximum values agree with Hunt et al. (2010), who evaluated the effects of biochemical stimulants, including methanol, on algal biomass productivity, reaching chl- α productivity values close to 0.5 mg/L.day.

The maximum and final productivities of carotenoids were around 0.20 mg/L.day and 0.14 mg/L.day, respectively. The maximum concentrations of carotenoids occurred in mixtures E and F, probably due to nutrient concentrations closer to the ideal for algal development (C:N:P ratios of 33:15:1 and 60:15:1, respectively), and the positive effect of the stress caused by PBE composition. Carotenoids' productivity depends on the cultivation conditions and the microalgae species (Varela et al. 2015), suffering interference by the combined stress of growth (Liu et al. 2021). Ribeiro et al. (2017) studied ricotta cheese whey as a substrate for *Chlorella protothecoides* cultivation and found maximum carotenoid productivity of 1.71 mg/L.day. Wei et al. (2008) reported productivity of 10 mg/L.day of lutein for *Chlorella protothecoides* grown

in a modified basal medium. Del Campo et al. (2001) found productivity of 8.3 mg/L.day of β -carotene in the cultivation of the microalgae *Muriellopsis* sp in a synthetic medium.

3.3- Microalgae community

The phytoplankton community was analyzed in the microalgae inoculum and each of the 8 mixtures at the end of the experiment. For the microalgae inoculum, the presence of *Chlorella vulgaris* and coenobium of *Tetrademus* was observed, with an abundance of 10 and 90%, respectively, and a total density of organisms of 1.67×10^7 ind/mL. The genus *Tetrademus* encompasses species widely found in fresh waters, such as rivers and lakes, with compounds such as lutein, β -carotene, and triacylglycerols in their structure (Gilbert-López et al. 2017), important for the food, cosmetics, and pharmaceutical industries (Gouveia et al. 2021). In addition, it is a genus with a good ability to adapt to stressful environments and assimilate different carbon sources (Bentahar and Deschênes 2022). In the present study, the genus was found in the form of coenobiums and colonies. *Chlorella vulgaris* is a microalga commonly found in waters of the study region, as it prefers nutrient-rich waters and supports high organic loads (Couto et al. 2021).

Densities of individuals (Fig. 6a) decreased when compared to the inoculum. However, this decrease was not related to the increase in PBE volume in the culture medium, as the mixtures E, F, and G (from 25 to 75% of PBE) obtained the highest density results. Even though the values of the mixtures are numerically different, they all show an order of magnitude of 10^6 , and there was no significant difference between treatments (p -value < 0.05). The lowest density was observed in the H mixture. The composition of the phytoplanktonic community (Fig. 6b) varied in each mixture. The proportion of *Chlorella vulgaris* increased in composition H (18.2%), decreased to values between 2 and 6% in mixtures A, C, D, and G, and was not found in mixtures B, E, and F. *Tetrademus* coenobium were dominant, with abundance greater than 90%, in mixtures from A to G, and were predominant (abundance $> 80\%$) in mixture H.

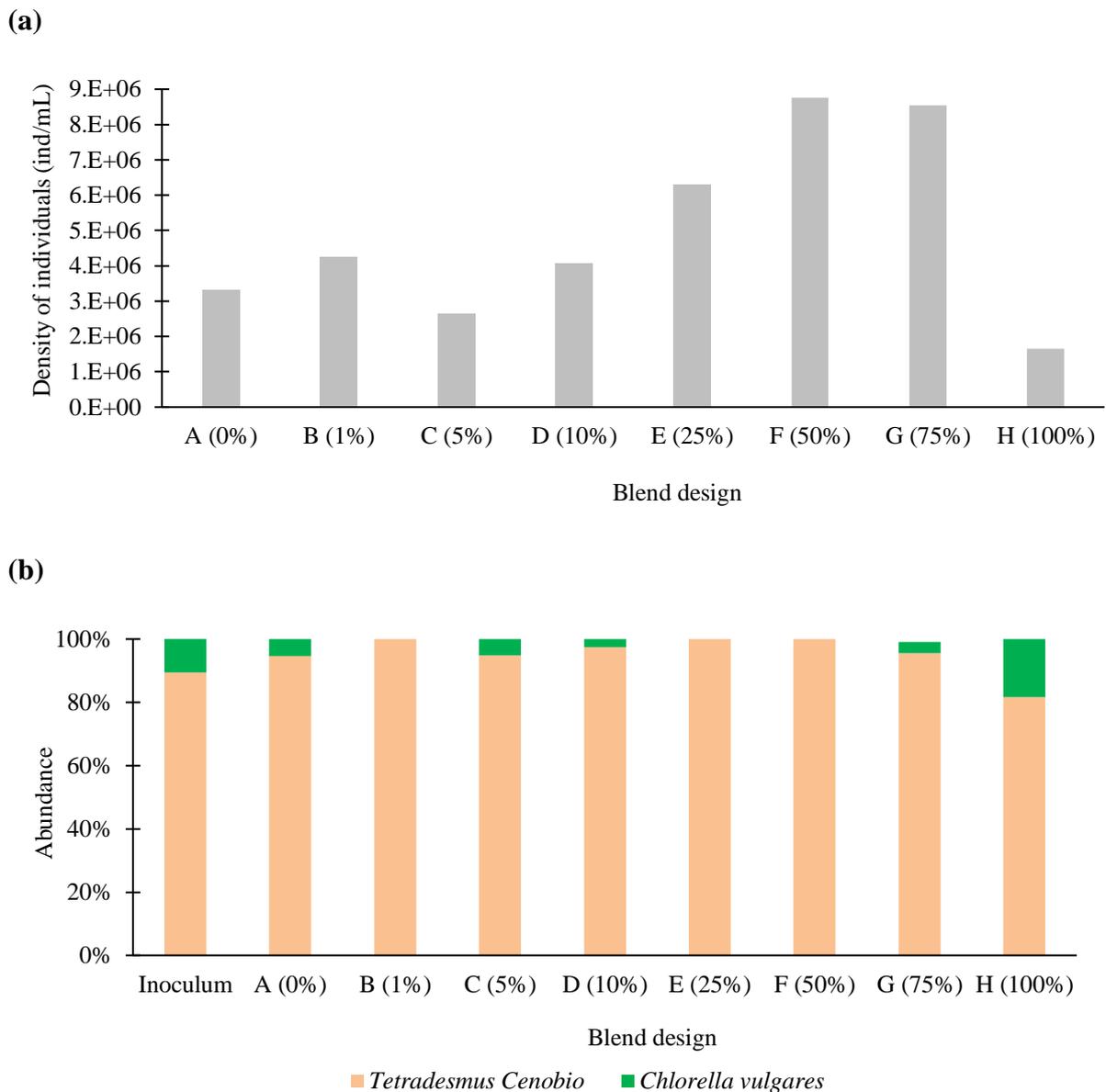


Fig. 6 – Density of individuals (a) and abundance of species (b) in the different mixture treatments. Source: Author (2023).

The growth of the *Tetradesmus* genus was not influenced by the presence of PBE (Figure 6b), as they were dominant at 1, 25, and 50% of the effluent in the medium. The highest productivity of chl- α and VSS were obtained in mixtures E and F. In addition, these compositions were among the optimal mixtures to obtain maximum values of chl- α and carotenoids. Comparing these results with those obtained in the phytoplankton community, the genus *Tetradesmus* has a high potential for producing the studied compounds under the effect of PBE. Admirasari et al. (2022) investigated the physiological performance of *Tetradesmus*

obliquus in media with different micronutrients concentrations. The authors found that the production of pigments depended on the medium's composition and obtained chl- α values ranging from 0.95 to 10.54 ng/ μ g DW (dry mass) and carotenoids ranging from 0.02 to 2.17 ng/ μ g DW (Admirasari et al. 2022). Gonçalves et al. (2019) evaluated different intensities and wavelengths in LED lights in *Tetradismus* cultivation and reported maximum values of 6.57 mg/L for carotenoids and 10.88 mg/L for chl- α , higher than those found in the present study.

4 - CONCLUSIONS

Microalgal cultivation in PBE from the furniture industry was proved possible. This effluent was not yet evaluated for microalgae cultivation, supporting future studies of PBE treatment via algal biotechnology. The nutritional deficiency of PBE was supplied by its mixture with DS, which indicates the possible adoption of a single, simple, and biological treatment system for both effluents since they are produced within the same industry plant.

It was verified that in the intermediate dosages of the PBE mixture (25-50%), there was a greater production of chl- α , carotenoids, and total biomass, which were the best compositions among the performed mixtures. It was also verified that this range of mixtures includes the optimal point of PBE concentration necessary to reach the highest productivity of chl- α and carotenoids, 41.2% and 40.7%, respectively. The higher production of chl- α and carotenoids may be linked to the presence of solvents and volatile organic compounds in the PBE. This effluent contains carbon, providing more suitable nutritional compositions for microalgae development. The dosage of 100% PBE inhibited algal growth and carotenoid production, possibly related to the solvents' toxic effect and volatile organic compounds and also to the lack of macronutrients such as nitrogen and phosphorus, essential to algae growth.

5 - REFERENCES

- Abdel-Raouf N, Al-Homaidan AA, Ibraheem IBM (2012) Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 19:257–275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>
- Abdo SM, Abo El-Enin SA, El-Khatib KM, et al (2016) Preliminary economic assessment of biofuel production from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 55:1147–1153. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.119>
- Admirasari R, Hindersin S, von Schwartzberg K, Hanelt D (2022) Nutritive capability of anaerobically digested black water increases productivity of *Tetradismus obliquus*: Domestic wastewater as an alternative nutrient resource. *Bioresource Technology Reports* 17:100905. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100905>

- Agostinho AA, Alves DC, Gomes LC, et al (2021) Fish die-off in river and reservoir: A review on anoxia and gas supersaturation. *Neotropical Ichthyology* 19:. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2021-0037>
- APHA APHA (2012) Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd edn. Washington, D.C., USA
- Aruoja V, Moosus M, Kahru A, et al (2014) Measurement of baseline toxicity and QSAR analysis of 50 non-polar and 58 polar narcotic chemicals for the alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere* 96:23–32. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.088>
- Assemany PP, Calijuri ML, Tango MD, Couto EA (2016) Energy potential of algal biomass cultivated in a photobioreactor using effluent from a meat processing plant. *Algal Research* 17:53–60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.018>
- Assis TC de, Calijuri ML, Assemany PP, et al (2019) Using atmospheric emissions as CO₂ source in the cultivation of microalgae: Productivity and economic viability. *Journal of Cleaner Production* 215:1160–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.093>
- Bentahar J, Deschênes J-S (2022) Media optimization design towards maximizing biomass production of *Tetrademus obliquus* under mixotrophic conditions. *Bioresource Technology Reports* 17:100885. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100885>
- Bolonhesi IBTM, Andreani CL, Theodoro JDP, et al (2022) Formaldehyde biodegradation in an ASBR-SBR system: an effective treatment solution for furniture industry painting booth wastewater. *International Journal of Environmental Science and Technology* 19:3075–3086. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03276-4>
- Couto E de A do, Calijuri ML, Assemany PP, et al (2015) Influence of solar radiation on nitrogen recovery by the biomass grown in high rate ponds. *Ecological Engineering* 81:140–145. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.040>
- Couto E, Calijuri ML, Assemany P (2020) Biomass production in high rate ponds and hydrothermal liquefaction: Wastewater treatment and bioenergy integration. *Science of The Total Environment* 724:138104. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138104>
- Couto E, Calijuri ML, Assemany P, Cecon PR (2021) Evaluation of high rate ponds operational and design strategies for algal biomass production and domestic wastewater treatment. *Science of The Total Environment* 791:148362. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148362>
- Couto EA, Calijuri ML, Assemany PP, Souza MHB (2018) Effect of depth of high-rate ponds on the assimilation of CO₂ by microalgae cultivated in domestic sewage. *Environmental Technology* 39:2653–2661. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1364302>
- Craggs R, Park J, Heubeck S, Sutherland D (2014) High rate algal pond systems for low-energy wastewater treatment, nutrient recovery and energy production. *New Zealand Journal of Botany* 52:60–73. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2013.861855>

- de Assis LR, Calijuri ML, do Couto E de A, Assemany PP (2017) Microalgal biomass production and nutrients removal from domestic sewage in a hybrid high-rate pond with biofilm reactor. *Ecological Engineering* 106:191–199. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.05.040>
- del Campo JA, Rodríguez H, Moreno J, et al (2001) Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology* 85:289–295. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00380-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00380-1)
- Gilbert-López B, Mendiola JA, van den Broek LAM, et al (2017) Green compressed fluid technologies for downstream processing of *Scenedesmus obliquus* in a biorefinery approach. *Algal Research* 24:111–121. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.03.011>
- Gonçalves AL, Pires JCM, Simões M (2017) A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. *Algal Research* 24:403–415. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.008>
- Gonçalves VD, Fagundes-Klen MR, Trigueros DEG, et al (2019) Combination of Light Emitting Diodes (LEDs) for photostimulation of carotenoids and chlorophylls synthesis in *Tetrademus* sp. *Algal Research* 43:101649. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101649>
- Gouveia L, Molnar Jazić J, Ferreira A, et al (2021) Green approach for the valorization of microalgae *Tetrademus obliquus*. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 24:100556. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100556>
- Hunt RW, Chinnasamy S, Bhatnagar A, Das KC (2010) Effect of Biochemical Stimulants on Biomass Productivity and Metabolite Content of the Microalga, *Chlorella sorokiniana*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162:2400–2414. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9012-2>
- Kalra R, Gaur S, Goel M (2021) Microalgae bioremediation: A perspective towards wastewater treatment along with industrial carotenoids production. *Journal of Water Process Engineering* 40:101794. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101794>
- Kämäräinen J, Knoop H, Stanford NJ, et al (2012) Physiological tolerance and stoichiometric potential of cyanobacteria for hydrocarbon fuel production. *Journal of Biotechnology* 162:67–74. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.07.193>
- Kotzabasis K, Hatzithanasiou A, Bengoa-Ruigomez MV, et al (1999) Methanol as alternative carbon source for quicker efficient production of the microalgae *Chlorella minutissima*: Role of the concentration and frequency of administration. *Journal of Biotechnology* 70:357–362. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(99\)00088-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(99)00088-7)
- Lemoine Y, Schoefs B (2010) Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research* 106:155–177. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9583-3>

- León R, Garbayo I, Hernández R, et al (2001) Organic solvent toxicity in photoautotrophic unicellular microorganisms. *Enzyme and Microbial Technology* 29:173–180. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00370-2](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00370-2)
- Liu C, Hu B, Cheng Y, et al (2021) Carotenoids from fungi and microalgae: A review on their recent production, extraction, and developments. *Bioresource Technology* 337:125398. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125398>
- Liu R, Li S, Tu Y, et al (2022) Recovery of value-added products by mining microalgae. *Journal of Environmental Management* 307:114512. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114512>
- Miazek K, Kratky L, Sulc R, et al (2017) Effect of Organic Solvents on Microalgae Growth, Metabolism and Industrial Bioproduct Extraction: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 18:1429. <https://doi.org/10.3390/ijms18071429>
- Mokrosnop VM, Polishchuk A v., Zolotareva EK (2016) Accumulation of α -tocopherol and β -carotene in *Euglena gracilis* Cells Under Autotrophic and Mixotrophic Culture Conditions. *Applied Biochemistry and Microbiology* 52:216–221. <https://doi.org/10.1134/S0003683816020101>
- Moreno-Garcia L, Gariépy Y, Bourdeau N, et al (2019) Optimization of the proportions of four wastewaters in a blend for the cultivation of microalgae using a mixture design. *Bioresource Technology* 283:168–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.067>
- Nisar N, Li L, Lu S, et al (2015) Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant* 8:68–82. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>
- Oliveira FR de, França SLB, Rangel LAD (2018) Challenges and opportunities in a circular economy for a local productive arrangement of furniture in Brazil. *Resources, Conservation and Recycling* 135:202–209. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.031>
- Ribeiro JES, Martini M, Altomonte I, et al (2017) Production of *Chlorella protothecoides* biomass, chlorophyll and carotenoids using the dairy industry by-product scotta as a substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 11:207–213. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.07.007>
- Santiago AF, Calijuri ML, Assemany PP, et al (2013) Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. *Environmental Technology* 34:1877–1885. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812670>
- Santos ARL, Aquino SF, Carvalho CF, et al (2010) Caracterização e tratabilidade biológica dos efluentes líquidos gerados em cabines de pintura de uma indústria moveleira. *Engenharia Sanitaria e Ambiental* 15:357–366. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522010000400008>

- Sutherland DL, Park J, Heubeck S, et al (2020) Size matters – Microalgae production and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds of three different sizes. *Algal Research* 45:101734. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101734>
- Úbeda B, Gálvez JÁ, Michel M, Bartual A (2017) Microalgae cultivation in urban wastewater: *Coelastrum* cf. *pseudomicroporum* as a novel carotenoid source and a potential microalgae harvesting tool. *Bioresource Technology* 228:210–217. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.095>
- Utermohl H (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie* 9:1–38
- Vaajasaari K (2004) Hazardous properties of paint residues from the furniture industry. *Journal of Hazardous Materials* 106:71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.11.004>
- Varela JC, Pereira H, Vila M, León R (2015) Production of carotenoids by microalgae: achievements and challenges. *Photosynthesis Research* 125:423–436. <https://doi.org/10.1007/s11120-015-0149-2>
- Wang M, Shi L-D, Lin D-X, et al (2020) Characteristics and performances of microalgal-bacterial consortia in a mixture of raw piggery digestate and anoxic aerated effluent. *Bioresource Technology* 309:123363. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123363>
- Wei D, Chen F, Chen G, et al (2008) Enhanced production of lutein in heterotrophic *Chlorella protothecoides* by oxidative stress. *Science in China Series C: Life Sciences* 51:1088–1093. <https://doi.org/10.1007/s11427-008-0145-2>
- Wu S, Zhang H, Yu X, Qiu L (2014) Toxicological Responses of *Chlorella vulgaris* to Dichloromethane and Dichloroethane. *Environmental Engineering Science* 31:9–17. <https://doi.org/10.1089/ees.2013.0038>

6 - SUPPLEMENTARY MATERIAL

Fig. S1

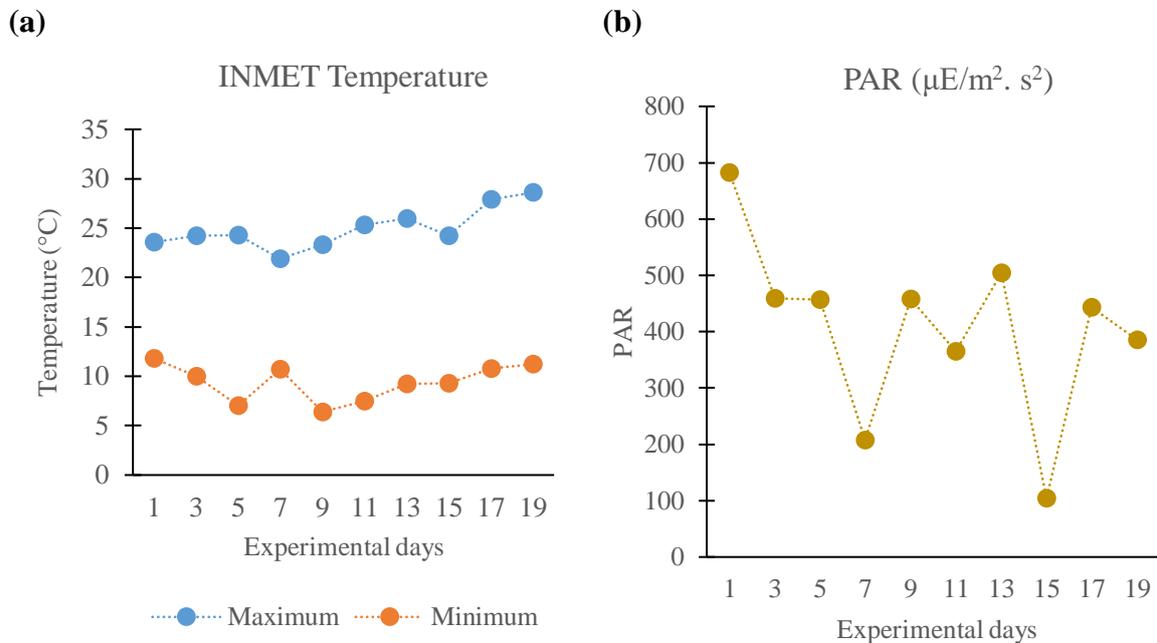


Fig. S1 - Air temperature (a) and photosynthetically active radiation (PAR) (b) of the experimental batch. Source: Author (2023).

ARTIGO 2 – CARBON SUPPLEMENTATION IN DOMESTIC SEWAGE VIA MIXING WITH PAINT BOOTH EFFLUENT: INFLUENCE ON THE PERFORMANCE OF BIOREMEDIATION AND ALGAL BIOMASS PRODUCTION FROM HIGH-RATE ALGAL PONDS²

ABSTRACT

The paint booth effluent (PBE) was used as a carbon supplement to evaluate the treatment of domestic sewage (DS) via microalgae biotechnology. The present study aimed to assess the performance of different mixtures of PBE and DS in the treatment and production of algal biomass in high-rate algal ponds (HRAPs), seeking to determine the optimal mixture between the effluents. The blends were: D1 (0% PBE, 100% DS), D2 (18.75% PBE, 81.25% DS), D3 (37.5% PBE, 62.5% DS), D4 (56.25% PBE, 43.75% DS) and D5 (75% PBE, 25% DS). As a result, in the D2 blend, with better carbon, nitrogen, and phosphorus ratio, there was a higher primary and total biomass productivity (0.08 g chl- α /m².day and 2.0 g VSS/m².day). The regression adjustment corroborated the results of the D2 mixture, showing PBE dosages between 18 and 25% as better for algal growth. The insertion of PBE in the medium positively affected the bioremediation performance, increasing the removals with the addition of PBE. The nutrient and organic matter removal efficiencies ranged from values close to 50%, of total organic carbon in the D1 mixture, and reaching 100% in the removal of ammoniacal nitrogen. The D2 mixture stands out with the highest nitrogen recovery via the assimilation of organic nitrogen, reaching 19% more in relation to the initial value. Thus, PBE contributed to the supply of organic carbon to the biomass, favoring the consortium between algae and bacteria.

KEYWORDS: microalgae, biotechnology, nutrient recovery, industrial effluent treatment, nutritional supplementation.

² Article accepted for publication by the Journal of Water Process Engineering (ISSN: 2214-7144). First revision submitted in December 14, 2022. Status in March 10, 2023: Accepted for publication.

the environment or undergo inappropriate disposal methods [2]. Solid particles are burned by incinerators, acting as potential pollutants in the atmosphere and emitting substances harmful to health [3]. Liquids from these industries face ineffective treatment processes, causing water and soil pollution [4].

A critical stage of furniture processing is the painting and finishing process. It is done inside a painting booth, where solvents, paints, and varnishes are applied to the wooden furniture. The application is carried out in front of a water curtain that captures all excess product, controlling the emission of its vapors into the atmosphere and generating the paint booth effluent (PBE). This effluent is composed of high levels of total suspended solids, high concentrations of chemical oxygen demand and carbon, in addition to the presence of toxic substances such as xylenes and toluenes [5,6]. Among the products used for painting wooden furniture are aliphatic catalysts, thinners, varnishes, and enamels. They contain potentially polluting compounds that are difficult to treat [7], such as ethyl acetate, ethyl glycol acetate, n-butyl acetate, toluene, and xylene. PBEs are not generated continuously. About 800 m³ are produced every three months [7]. Thus some industries improperly dispose of this effluent in the collection network of domestic sewage (DS) [7], negatively affecting the treatment performance of municipal wastewater treatment plants (WWTPs) and polluting the receiving bodies. Therefore, the treatment systems to be implemented by the industries must attend to individual characteristics of the effluents generated in their units at every industrial level [8].

An effluent treatment process that can enable the joint treatment of PBE with DS within the furniture industries is the biological treatment through high-rate algal ponds (HRAPs). HRAPs are reactors in the shape of a shallow track, where the effluent flows, driven by a system of blades, through a channel formed by a central baffle. They are open, versatile, and easy to operate systems [9], having as advantages the practicality, the low cost involved, and the waiver of the use of chemical products [10]. During the development process of microalgae, bacteria, and other microorganisms, macro and micronutrients, organic matter, and other compounds, including metals and solvents, present in the effluent are removed from the liquid medium [11]. In addition, the biomass formed during treatment has the potential to produce bioproducts, adding economic value to the treatment process [9].

The low concentration of nutrients, such as nitrogen and phosphorus, presented by the PBE [5,6] may be a limiting factor for using microalgae technology. Thus, mixtures between PBE and DS can be beneficial since, for biological treatments, the sewage would nutritionally complete the PBE [6], assisting in the maximum growth of microalgal cells and improving the

relationship between nitrogen, phosphorus, and carbon in the culture medium. In addition to the nutritional character, the mixture of effluents can help dilute substances that inhibit algal development, supporting growth and improving productivity [12]. PBE has solvents in its composition, which may affect algal growth and, consequently, the treatment performance [13]. At low proportions of PBE compared to DS, solvents can stimulate algal growth by providing an organic carbon source for mixotrophic algal species [14]. However, nutritional deficits can inhibit algal growth in high proportions.

Microalgae have bioremediation potential in many effluents, including DS. Several forms of nutritional supplementation of the culture medium have been described for this effluent, especially in trying to overcome its carbon deficit. Assis et al. [15] used gasoline combustion gases as a source of CO₂ in HRAPs, obtaining high algal biomass yields. Couto et al. [16] evaluated the addition of CO₂ on the treatability and production of algal biomass, highlighting the positive influence of carbon supplementation on nutrient removal and recovery by algae. In addition, the produced biomass was able to assimilate up to 90% of the CO₂ flow supplemented in the system [17], contributing to the reduction of the greenhouse effect.

In the present study, it is believed that the mixture between both effluents can be synergistic, complementing the carbon in the DS and enabling a solution for effluents of difficult treatability, such as PBE. This way, the industrial reality would be contemplated, solving an environmental problem often found in small furniture industries. However, no studies on the treatment of PBE using microalgae biotechnology were found in the literature, as well as its effect on the dynamics and growth of biomass and treatability performance. Therefore, the objective was to evaluate the performance of different mixtures of PBE and DS in the treatment and production of algal biomass in HRAPs, seeking to determine the optimal mixture between the effluents. Thus, the influence of different mixtures on the recovery of nutrients by the biomass, as well as their biochemical characterization, aiming at possible beneficial uses for their valorization, was evaluated.

2 - MATERIAL AND METHODS

2.1 Study area

The experiments were carried out in a greenhouse at the Laboratory of Sanitary and Environmental Engineering, located at the Federal University of Viçosa, in the municipality of Viçosa, Minas Gerais, Brazil (20°45'14"S, 42° 52'54"W). The municipal average altitude is

686 m above sea level. The climate, according to the Köppen classification, is humid subtropical (Cwa), defined by dry winters and rainy summers. It has an average annual precipitation of 1221 mm, average annual temperatures between 19 and 20 °C, and average annual relative humidity of 81% [18,19].

2.2 Culture medium

The medium for microalgae cultivation was composed of a combination of two effluents, PBE and DS. The PBE was collected from a wood and plywood furniture industry in the municipality of Guidoal (21°07'59''S, 42°51'00''W), Minas Gerais, Brazil. This effluent is stored in an outdoor tank, also used for recirculation. The DS was obtained at the WWTP in the Romão dos Reis neighborhood, monitored and operated by the Autonomous Water and Sewage Service in the municipality of Viçosa, Minas Gerais, and composed of a grating system, desander, flow meter, septic tank, and anaerobic filter. The collection was performed after the septic tank unit.

2.2.1 Inoculum

A microalgae inoculum was prepared as a starting point for algal development in the mixtures. An inoculum can provide conditions for algae's survival in an unfavorable environment [20]. The microalgae inoculum was previously prepared from the DS of the Romão dos Reis WWTP. A 30 L container was prepared and placed inside the greenhouse under natural conditions. The main purpose of this methodological stage was to enhance the development of indigenous microalgae species. Using a spectrophotometer (Hach, DR 3800), the absorbance was measured at a wavelength of 680 nm once a day so the microalgal growth could be indirectly analyzed, as performed by Bohutskyi et al. [21]. In addition, the dissolved oxygen in the medium was measured using a multiparameter probe (Hach, HQ40d - Luminescent Dissolved Oxygen). Initially, the dissolved oxygen concentration was 6.4 mg/L and reached 12.5 mg/L, indicating the presence of photosynthetic organisms. After confirming the growth of photosynthetic organisms (after 12 consecutive days), 3 liters of inoculum was added to each treatment.

2.3 Experimental unit

As an experimental unit, bench-scale high-rate algal ponds (HRAPs) were used. The ponds were made of fiberglass, measuring 72 cm in length, 32 cm in width, and 20 cm in height, with a useful height of 16 cm. They have an oval shape at the ends, a surface area of 2,084 cm², a useful volume of 33 L, and a central baffle measuring 40 cm. The set of 10 HRAPs was moved

by aluminum blades connected by a system of shafts and pulleys to a 1 hp WEG CFW-10 series motor. The ponds were sheltered in a greenhouse with a 50% shading screen.

2.4 Experimental design

The mixture of the two effluents, DS and PBE, characterized a “binary mixture experiment”. Thus, a mixture experiment was carried out with combinations in a simplex centroid design, varying in percentage from 0 to 100%, in two randomized blocks. The design was generated in Minitab® software. The mixtures were complementary and varied from 25 to 100% for DS and from 0 to 75% for PBE, with duplicate repetitions for each mixture. The blends were: D1 (0% PBE and 100% DS), D2 (18.75% PBE and 81.25% DS), D3 (37.5% PBE and 62.5% DS), D4 (56.25% PBE and 43.75% DS) and D5 (75% PBE and 25% DS). After defining the mixture compositions, a raffle was performed to allocate the positions of the designs in the different blocks. Ten reactors (presented in section 2.3) were used, two for each blend. The counting of the days of the experiment began 12 hours after the inoculum addition and ended when a decrease in the chlorophyll-a concentration (section 2.5.1) was observed. The total number of experimental days was 24.

2.5 Operation and monitoring

2.5.1 Analyzes

Analyzes of pH, temperature (TEMP), and dissolved oxygen (DO) were carried out to obtain the physical and chemical characteristics of the raw effluents (PBE and DS) using a multiparameter probe (Hach, HQ40d - Luminescent Dissolved Oxygen). Measurements of DO concentrations in the culture medium were performed daily at 12:00 pm. According to the 22nd edition of APHA [22], analyzes of total suspended solids (TSS), volatile suspended solids (VSS), fixed suspended solids (FSS), settleable solids (SSed), total ammonia nitrogen (N-NH₄⁺), total Kjeldahl nitrogen (TKN), nitrate (NO₃⁻), total and soluble phosphorus (P), soluble and total chemical oxygen demand (COD) and alkalinity were performed. Analysis code of the previously mentioned methods is included in the supplementary material (Table S1). Dissolved carbon analyzes (total organic carbon - TOC, total carbon – TC, and inorganic carbon - IC) were carried out using the Shimadzu TOC 5000 analyzer. The samples were previously filtered through a 0.45 µm membrane to quantify soluble fractions. Finally, analyzes of ethylbenzene, toluene, and xylene were carried out in PBE following the guidelines of USEPA (2018) (code SW-846/8260D-2018).

The experiment operation was done in a batch process, in which the mixture compositions (item 2.4) were inserted into the HRAPs, totaling a mixture volume of 30 L. 10% (v/v) of microalgae inoculum (item 2.2.1) was also added to the volume of mixtures, totaling 3 liters. For the mixtures, the analyzes above were followed, adding the chlorophyll- α (chl- α) measurement (Table S1 of the supplementary material). The free ammonia fraction (NH₃) was obtained, as shown by Couto et al. [23]. The primary and total productivities of each HRAP were expressed in terms of chl- α and VSS, respectively. The Shimadzu TOC 5000 analyzer quantified the carbon present in the algae biomass. The experimental batch was interrupted when observing the decrease in algal growth, via chl- α analysis, according to NEN [24] and Nush [25].

Productivity per area (Pa, g/m².day) of HRAPs was calculated based on chl- α (primary productivity) and VSS (total biomass productivity), according to Equation 1 [26]:

$$Pa = (X_t - X_0) / (t_x - t_0) \quad (1)$$

where X_t is the concentration of chlorophyll- α or VSS (g/m²) at time t_x (day) and X_0 is the concentration of chlorophyll- α or VSS (g/m²) at the initial time (t_0 , day).

The carbon fixed rate for this study results was calculated according to the Equation 2 [27]:

$$\text{Fixed CO}_2 \text{ rate (g/L.d)} = P \times C_{\text{bio}} \times (\text{MCO}_2/\text{MC}) \quad (2)$$

where: P = biomass productivity (g/L.d); C_{bio} = biomass carbon content (g/g); $\text{MCO}_2/\text{MC} = \text{CO}_2$ and carbon molar mass.

2.5.2 *Phytoplanktonic community*

The phytoplankton community was characterized in the inoculum and the 10 HRAPs at the end of the batch so that the species that grew and adapted to the characteristics of each mixture could be verified. For this characterization, 20 mL were collected from each HRAP and preserved in a 4% formaldehyde solution. The characterization was carried out at the genus level, and for the dominant genera, the species were identified. For the quantitative analysis, the individuals were counted in a sedimentation chamber under an inverted microscope [28]. The density of organisms was determined using the criteria described in APHA [22]. Species identification was carried out using a Neubauer camera in an inverted microscope [29,30]. The morphological characteristics of the species were confirmed by consulting an online database [31].

2.5.3 Biomass characterization

HRAP paddlewheels were turned off for biomass gravitational sedimentation at the end of the batch. After the complete manual separation, the biomass was dried at 105 °C for 24 hours and macerated. The lipid content of the biomass was determined using the Soxhlet extraction methodology [32]. The carbohydrate content in the biomass was measured through quantitative acid hydrolysis [33], followed by the phenol-sulfuric reagent methodology [34]. The reading was done in a spectrometer at 490 nm, using a standard glucose curve. Protein content was indirectly determined using the TKN method (section 2.5.1), and the nitrogen-to-protein conversion factor was 6.25 [35]. The ash content was determined by biomass combustion in a muffle at 550 °C for 3 hours (EN 14775, 2009).

2.5.4 Statistical analysis

The experimental analysis results were organized, stored, and treated in spreadsheets using Excel® software. Descriptive statistics analysis, significance tests, and quadratic regressions were performed using Minitab software®. Analysis of variance (ANOVA) was performed with manual verification, with subsequent application of Fisher's test at 5% of significance, to differentiate the results obtained between the mixture designs.

For the regression analyses, the “F” test of significance was performed for the coefficients of the obtained equation. In addition, as a way of investigating the performance of the models, analyzes were carried out based on sampling errors, that is, a relationship between the values observed experimentally and those predicted by the generated equation. Among them, the mean absolute error (MAE) was calculated in percentage and the mean bias error (MBE) [36], the mean squared error (RMSE) [37], and the coefficient of efficiency of the Nash-Sutcliffe model [38].

3 - RESULTS AND DISCUSSION

3.1 – Growth and production of biomass

Understanding the factors that stimulate the growth of microorganisms in the medium is a challenge [39]. Nutrient availability, pH dynamics, temperature, solar radiation, and carbon dioxide concentration influence microalgal growth [40]. Many of these can be considered limiting factors [39].

The evaluated PBE is an effluent with nutrient deficits such as total phosphorus and nitrogen (Table S2), which are necessary to achieve efficiency in the microalgae biological treatment. However, it has a high concentration of total organic carbon (TOC), with a

carbon/nitrogen/phosphorus ratio (C:N:P) of 111.5:3.1:1. On the other hand, DS, when compared to PBE, has a lower amount of dissolved TC in its composition, of which approximately 85% is in inorganic form (Table S2), having a C:N:P ratio equal to 11.1:17.2:1. These relationships indicated that the mixtures were desirable for algal growth and development since the ideal ratio for cultivation is 100:18:1 [41]. The nutritional characteristics of the mixtures, as well as the C:N:P ratios, are shown in the supplementary material (Table S3). It should be noted that D2 was the treatment with the best nutrient ratio (closer to the ideal), with a C:N:P of 62:35:1.

Figure 1 shows the behaviors of the variables pH, DO, chl- α and VSS during the experimental batch. The pH is a variable that can indicate algal growth and development in the medium, as microalgal activities alter the concentrations of hydroxide ions in the medium, increasing the pH [42]. In this way, the photosynthetic activity carried out by microalgae can be verified indirectly from the pH data [16].

In the present study, the initial pH values were close to neutrality (D1 = 7.45; D2 = 7.34; D3 = 7.15; D4 = 6.96 and D5 = 6.75) and, at the end of the operation, reached values close to 10 pH units (D1 = 10.04; D2 = 10.17; D3 = 10.00; D4 = 9.65 and D5 = 9.50) (Figure 1a). The change in pH can affect wastewater treatment (evidenced in item 3.2) since photosynthesis is a process that occurs under daylight. During this process, the IC dissolved in the medium is assimilated. So, the balance of the carbonate system is altered, raising the pH and modifying the proportions of free ammonia, favoring the volatilization of ammonia nitrogen [16,43]. In addition, raising the pH of the medium, as occurred in the HRAPs, can lead to P loss and its non-recovery in the biomass since the mechanism favored under primary conditions is its chemical precipitation.

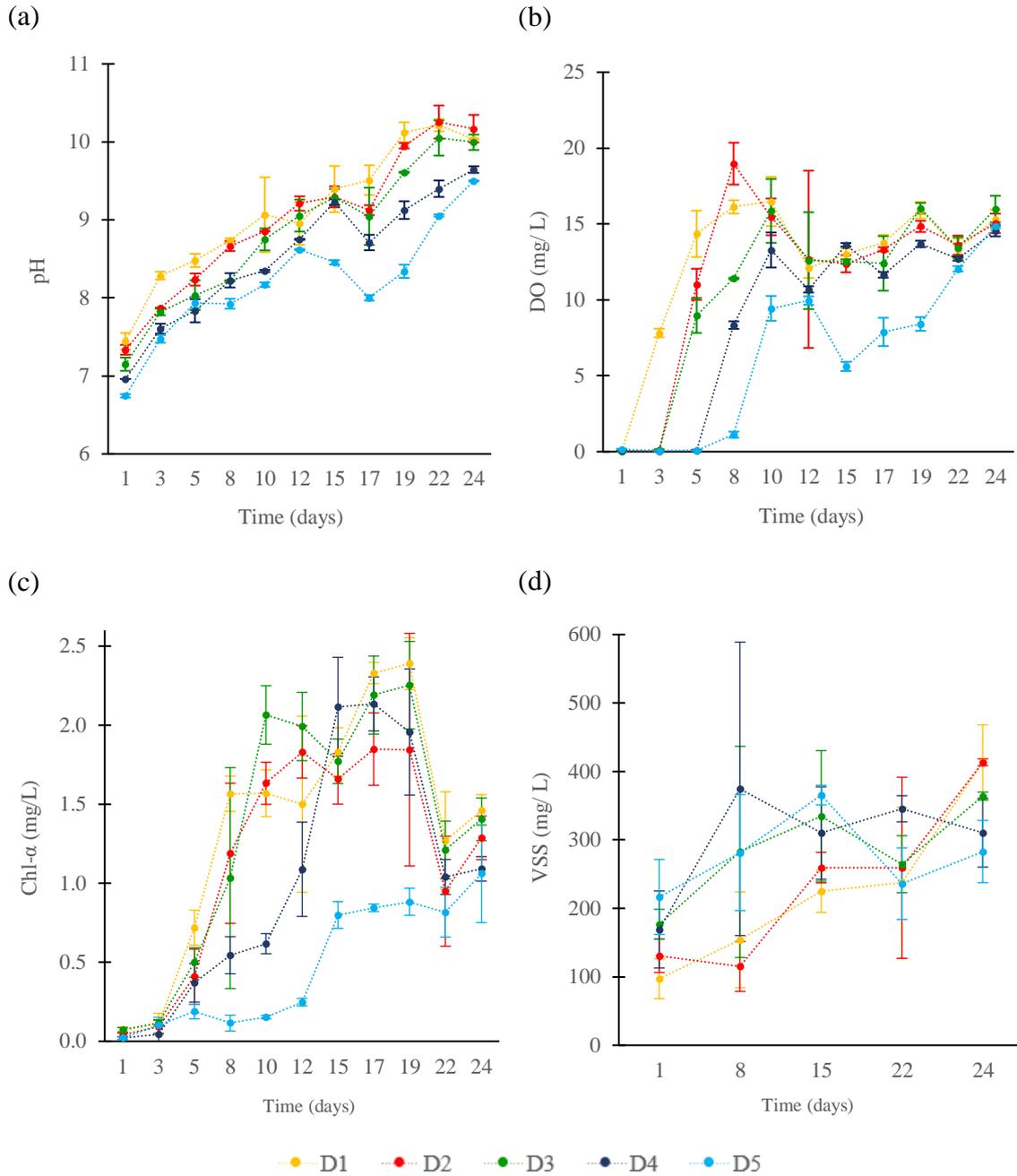


Figure 1 – pH (a), DO (b), chl- α (c), and VSS (d) concentrations in the mixtures (n = 2). Vertical lines represent standard deviations. Source: Author (2023).

The DO concentrations (Figure 1b) during the execution of the experiment started at values close to zero (D1 = 0.03 mg/L; D2 = 0.03 mg/L; D3 = 0.05 mg/L; D4 = 0.09 mg/L and D5 = 0.17 mg/L) and reached final values of around 15 mg/L (D1 = 15.33 mg/L; D2 = 15.05 mg/L; D3 = 15.99 mg/L; D4 = 14.55 mg/L and D5 = 14.87 mg/L). The increase in DO occurs mainly due to the photosynthesis process [43]. It was observed that the mixtures with higher nitrogen and phosphorus concentrations, D1 and D2, reached higher DO concentrations faster (about 3 days to get values greater than 6 mg/L). In mixtures lacking nutrients, for example, the D5 mixture, there was a long delay in the DO increment (approximately 9 days to reach the same value).

The maximum production values of chl- α (Figure 1c), for mixtures from D1 to D4, occurred between the 15th and 19th day of operation. Mixture D1 reached the maximum concentration of 2.39 mg/L followed by mixtures D2, D4, D3 (Table 1). The mixture with 75% PBE (D5) showed a maximum value of 1.06 mg/L, recorded on the last monitoring day (day 24). Statistically, it was demonstrated that the D5 composition differed from the others, having a lower mean chl- α concentration (p-value < 0.05), indicating stress on microalgal growth. The lower algal development can be explained by the fact that this composition has the lowest concentration of nutrients necessary for algal development or by the presence of compounds that exert toxicity to the algal biomass (Table S2), such as the organic solvents found in PBE, including ethylbenzene, total xylenes and toluene [13]. Regarding the primary productivity (of chl- α), there was no statistical difference between the mixtures (p-value > 0.05), with the highest achieved by the D2 mixture, 0.08 g/m².day, followed by D4, D1, D3 and D5 mixtures (Table 1).

Table 1 – Concentration and productivity, maximum and final, of chl- α and VSS.

Blend	Concentration (mg/L)				IncVSS (mg/L)	Productivity (g/m ² .day)		
	VSS		chl- α			VSS	chl- α	
	I	F	Max	F			Max	F
D1	98.75	414.0	2.39 _A	1.46	315.3 _A	2.2 _A	0.05 _A	0.01 _A
D2	130.8	413.5	2.25 _A	1.40	282.8 _A	2.0 _{AB}	0.08 _A	0.01 _A
D3	176.8	364.0	1.85 _A	1.29	187.2 _B	1.3 _{ABC}	0.04 _A	0.008 _A
D4	169.2	310.5	2.13 _A	1.09	141.3 _{BC}	1.0 _{BC}	0.05 _A	0.008 _A
D5	216.7	283.0	1.06 _B	1.06	66.33 _C	0.5 _C	0.03 _A	0.008 _A

IncVSS – VSS Increment; I – Initial; F - Final; Max – Maximum; letters represent significance (by Fisher's test) between treatments, different letters indicate statistical differences (p-value > 0.05). Source: Author (2023).

From the PBE dosages (%PBE) in the mixtures, a quadratic regression was established for the maximum possible values of chl- α concentration ($[\text{chl-}\alpha]$) (Figure 2).

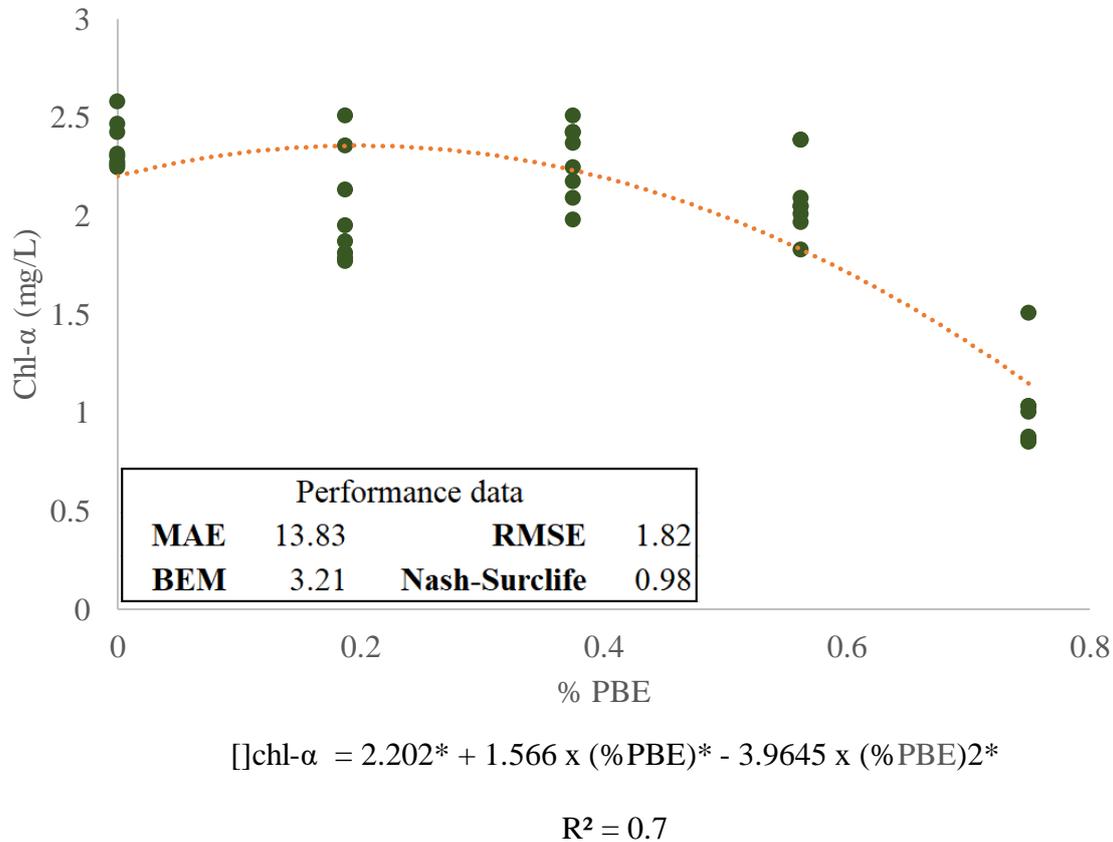


Figure 2 – Quadratic regression of chl- α concentration versus % PBE in the mixtures. Coefficients with an asterisk (*) are statistically significant. Source: Author (2023).

As evidenced in Figure 2, 70% of the chl- α concentration can be explained by the dosage of PBE in the medium. However, it is important to emphasize that this statistical relationship does not suggest a cause but rather a possibility and explanation. The performance data suggest acceptance of the obtained equation. In this way, the established equation can be used to predict $[\text{chl-}\alpha]$ for a %PBE value in the mixture or to find %PBE settings that correspond to the desired value or range of values of $[\text{chl-}\alpha]$. It is worth noting that the production of chl- α depends on factors external to the amount of PBE in the effluent, such as cultivation conditions, light intensity, concentration of nutrients in the medium [42,44] and the dominant microalgal species or if there is a consortium between them [45].

The model equation shows the optimal production of chl- α at a dosage of 19.75% PBE. The higher the PBE dosage in the mixture, the higher the COD, dissolved TC, and traces of solvent concentrations in the medium (Table S2). Some studies have evaluated the effect of high COD concentrations on microalgae productivity. Gupta et al. [46] assessed the different concentrations of COD (1000, 3000, and 5000 mg/L) as an effect on the tolerance and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. The authors achieved the best results of biomass growth for the initial concentration of 1000 mg/L, which is close to the initial concentration of the D2 mixture of the present research (an average of 631.25 mg/L of COD). On the other hand, high COD concentrations can promote the heterotrophic development of microalgae [47] or even favor the growth of other heterotrophic microorganisms, such as bacteria.

Couto et al. [16] stated that algae biomass production is greater when carbon is added to the medium, especially IC in the form of CO₂ since this form of carbon can be used by algae to carry out photosynthesis. Thus, the increase of PBE in the medium can influence algae growth when observed from the point of view of carbon concentration. However, it is important to point out that a higher volume of PBE is equivalent to a lower amount of DS, consequently, a lower concentration of nutrients, nitrogen, and phosphorus available for algal growth. Thus, D2 proved to be a favorable mixture for algal growth, as it presents characteristics of PBE that can stimulate the development of algae and readily assimilable concentrations of nutrients by the DS.

The VSS data (Figure 1d) showed that the lower the percentage of PBE, and consequently the higher DS, the greater the increase in total biomass in the medium. Design D1 showed the highest increase, 76%, followed by D2 with 68.4%, D3 (51.4%), D4 (45.5%), and D5 (23.4%). Thus, all mixture designs showed an increase in VSS concentration, indicating biomass production in the medium (Table 1). The increase in VSS in the culture medium may be associated with the growth of various organisms, including algae, zooplankton, fungi, and bacteria [16]. When evaluating the concentrations of chl- α and VSS in the medium, it is observed that after the 19th day of analysis, the values of chl- α decline and those of VSS remain stable. This may be associated with the presence of other non-photosynthetic organisms and the existence of organic substances. The chl- α /VSS ratio values were lower than 0.4% in all treatments, indicating at the end of the experiment a predominance of heterotrophic organisms in the culture medium and an unhealthy microalgae population [48].

The statistical difference between the results and the maximum variation of approximately 250 mg/L in the VSS concentration between the D1 and D5 mixtures indicated

that the higher concentration of PBE can affect biomass production. The increase in this effluent reduces the concentration of available nutrients for the microalgae and bacteria, increasing the content of potentially toxic compounds, such as solvents, in the medium. It is important to emphasize that the concentration, and consequent increase, of VSS in the medium depends on the behavior between biomass growth and organic matter (OM) removal [16], also measured in terms of COD (item 3.2).

The VSS productivity, evaluated at the end of 24 days, varied from 2.2 g/m².day, for the D1 mixture, to 0.5 g/m².day for D5 (Table 1). These results corroborated with the highest increment by the D1 mixture and the lowest increment by D5, indicating that the greater presence of nutrients in the medium can be a stimulating factor for faster microalgal growth, that is, at higher rates. A similar result was obtained by Sutherland et al. [49], who evaluated the effect of two distinct nutrient concentrations on microalgae productivity in HRAPs for wastewater treatment. The authors obtained better VSS productivity (13.8 g/m².day, a value 6.3 times greater than that obtained by the D1 mixture of the present work) in the ponds that received the highest concentrations of nitrogen (39.7 g/ m³ of N-NH₄⁺, to the detriment of the moderate concentration of 19.9 g/m³ of N-NH₄⁺), showing an improvement in algae physiological behavior.

3.2 – Effluent bioremediation

Table 2 presents the initial and final characterization of the five different mixture designs, showing the removal efficiencies of the variables TOC, soluble P, soluble COD, and N-NH₄⁺.

Table 2 – Concentrations (mg/L) and efficiencies (%) of removal of organic matter, phosphorus, and ammonia nitrogen (mean values and standard deviation, in parentheses).

		D1	D2	D3	D4	D5
TOC	Initial	31.4 (4.0)	71.8 (11.8)	140.3 (18.0)	208.0 (12.1)	288.1 (32.3)
	Final	15.8 (1.2)	19.2 (5.3)	17.4 (0.65)	20.7 (8.4)	21.7 (4.4)
	%	49.3 _C	73.4 _B	87.5 _A	89.9 _A	92.3 _A
Soluble COD	Initial	201.8 (62.8)	631.3 (70.7)	1160.7 (202.0)	1625.0 (132.6)	2343.8 (212.1)
	Final	52.5 (10.6)	58.8 (15.9)	47.5 (1.76)	71.3 (10.6)	79.4 (13.25)
	%	73.5 _C	90.8 _B	95.8 _A	95.6 _A	96.6 _A
N-NH ₄ ⁺	Initial	61.6 (4.7)	51.5 (10.9)	39.8 (9.3)	25.2 (0.0)	13.9 (3.6)
	Final	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
	%	100 _A	100 _A	100 _A	100 _A	100 _A
Soluble P	Initial	4.6 (2.02)	1.8 (0.35)	0.98 (0.29)	0.53 (0.15)	0.24 (0.08)
	Final	2.2 (0.23)	0.43 (0.12)	0.32 (0.17)	0.19 (0.12)	0.08 (0.03)
	%	44.0 _B	75.5 _A	69.1 _A	54.5 _{AB}	63.8 _{AB}

Letters represent significance (by Fisher's test) between treatments, different letters indicate statistical differences (p-value > 0.05). Source: Author (2023).

For the variables TOC, COD, and P, at least one of the means of the analyzed treatments was statistically different from the others (p-value > 0.05). For OM removal, evaluated by the COD and TOC variables, it was observed that the increase of PBE in the medium improved the treatment efficiency. Thus, the mean COD and TOC removals for composition D1, 0% PBE, were statistically lower than the others and the mixtures D3, D4, and D5 were the ones that presented the best removal performances. The degradation of OM follows first-order kinetics, so the higher the initial concentration, the higher the percentage of PBE, and the faster the degradation. For mixtures with higher concentrations of PBE (D4 and D5), it is important to highlight that during effluent treatment in HRAPs, the consortium between algae and bacteria and the presence of other organisms in the medium can positively affect the treatment performance [19]. Studies like the one by Couto et al. [16] highlight the importance of other organisms' presence of in the assimilation of nutrients, helping to reduce pollutants concentration, besides bacteria's essential role in OM degradation.

COD removals ranged from 73.5 to 96.6%. For this variable, there was a reduction in its concentration in all the evaluated mixtures. The most relevant was the D5 mixture, with initial values of approximately 2400 mg/L reduced to 79 mg/L. Santos et al. [6] evaluated an

aerobic ascending flow reactor to analyze the treatability of PBE. They obtained treatment efficiency in the range of 60 to 90%, which is compatible with the data obtained in the present research. Bolonhesi et al. [5] found treatment efficiencies greater than 85% using a sequential system of an anaerobic reactor followed by an aerobic reactor as a treatment system for PBE.

The consortium between microalgae and heterotrophic bacteria in HRAPs can provide efficient degradation of OM since algae produce the necessary oxygen for bacterial degradation (as shown in Figure 1b for all mixtures), which in turn is responsible for providing IC for algal growth. In addition, mixotrophic microalgae species (item 3.3) stand out, which helps remove OM in moments with no sunlight [14]. When evaluating COD removal in HRAPs treating DS with CO₂ supplementation, results close to 40% efficiency stand out [16] and 31% [15]. Compared to these studies, carbon complementation in DS via mixing with another effluent proved promising for OM removal.

This result is corroborated by the TOC removal data, with efficiencies between 49.3 and 92.3%. Microalgae use carbon for their development, explaining the high removal efficiencies of this variable in mixtures with high concentrations of PBE, including mixtures where algal growth was limited by lower concentrations of N and P (Figure 1c). Carbon supplementation via PBE may have stimulated algae growth, improving the C:N:P ratio and leading to greater DO production (Figure 1b) and the growth of heterotrophic bacteria. Consequently, optimizing the balance between respiration and photosynthesis [16]. Figure 3 shows the concentrations of total dissolved carbon (TC) in the culture medium at the beginning (a) and end (b) of the experiment, as well as the percentages of carbon forms (organic or inorganic).

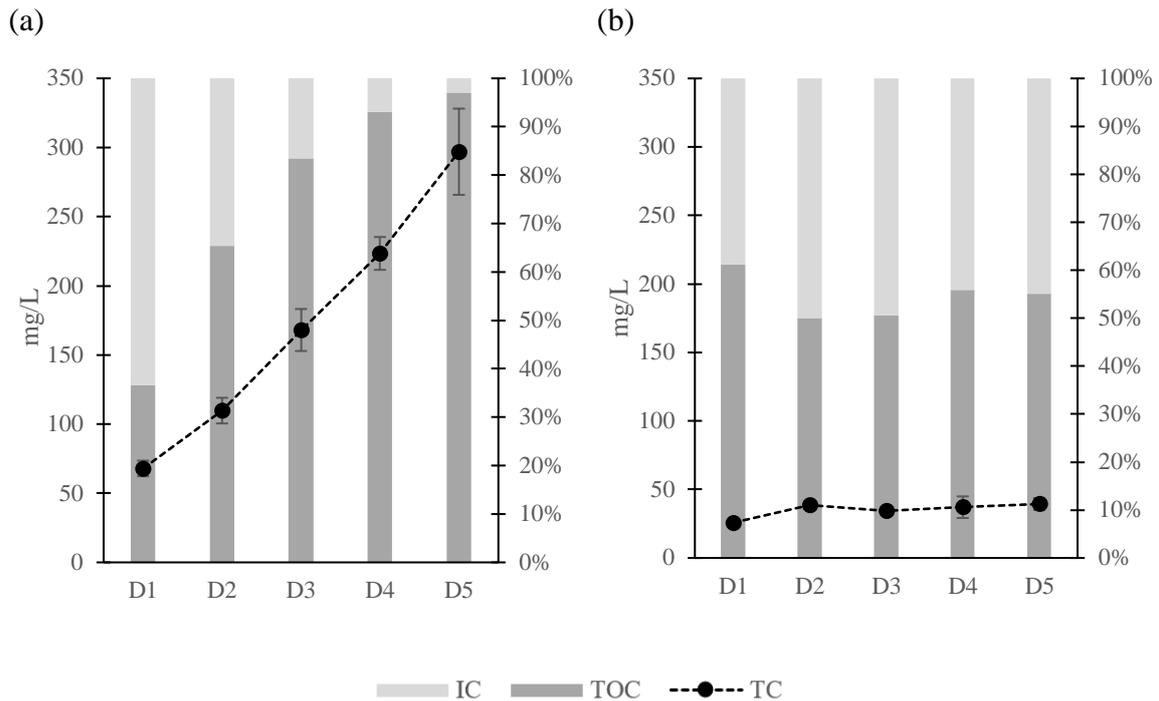


Figure 3 - Concentration of total dissolved carbon (TC) (mg/L) and percentage (%) of its components (TOC and IC) at the beginning (a) and end (b) of the experimental batch. Source: Author (2023).

As shown in Figure 3a, adding PBE to the culture medium raised the concentration of TC (from 67.91 mg/L in mixture D1 to 296.95 mg/L in D5), especially the organic form of this element, varying from 37% TOC in mixture D1 to 97% in D5. At the end of the experiment (Figure 3b), the concentration of TC decreased, and the presented forms became more equitable, close to 50%, with a higher IC fraction for D2 and D3 and a reduction of the organic fraction in the mixtures with higher levels of PBE.

The development of bacteria and other non-algal organisms is generally favored when IC is limited in the culture medium and high concentrations of the organic fraction of this element, as observed in DS. This scenario tends to favor the degradation of OM by bacteria that, in turn, produce the CO₂ necessary for algae photoautotrophic growth [16,41,50]. The available inorganic form of C is associated with the pH of the medium. Generally, the insertion of IC, in the form of CO₂, shifts the pH towards neutrality [41], controlling its increase. At more acidic pH, free CO₂ is dominant; however, in the initial pH range of the experiment (item 3.1), there may be a predominance of bicarbonate ions (HCO₃⁻) that can serve as a better supply of C than CO₂ [51]. At the end of the experiment, the pH close to 10 in all mixtures suggests that even for mixtures with higher PBE contents, such as D4 and D5, the degradation of organic

C by heterotrophic bacteria was slower than when compared to photosynthetic activity. Thus, adding CO₂ as a carbon supplement, in addition to the mixture with PBE, could benefit the system, increasing the production of algal biomass and helping to control the pH, avoiding nutrient loss.

Based on the above, the highest IC concentrations in the mixtures with the lowest PBE contents corroborated the highest DO and chl- α values (Figure 1), suggesting algal activity in the produced biomass. However, as already mentioned, C in its organic form can be used by mixotrophic algal species, stimulating the production of intracellular metabolites and acting as a promising substitute for algal metabolism [41]. Thus, the forms of C present in the culture medium may have guided algal development in the different mixtures, being responsible for the best biomass productivity in mixtures D2 and D3.

As previously reported, the carbon present in the effluent (mainly in the form of organic matter) will undergo a degradation process to the form of CO₂ and subsequently released into the atmosphere. With the presence of algae in the culture medium, the resulting CO₂ will be assimilated and, temporarily, will stop exerting the greenhouse effect on the environment [52]. The CO₂ fixation rates for each treatment were: D1 = 1.4; D2 = 1.2; D3 = 0.9; D4 = 0.6 and D5 = 0.3 g/L.day. Microalgae of the genus *Chlorella* sp. when cultivated in domestic sewage presented CO₂ fixation rates of 0.47-0.57 g/L.day [27]. Xu et al. [52] carried out a detailed review of advances in CO₂ fixation by microalgae with various cultivation modes, including HRAP, and observed that algae manage to fix from 0.02 g/L.day to 2.16 g/L.day. These studies show consonance between the range established in the mixtures of the present experiment and those found in the literature.

P removal efficiencies ranged from 44 to 75.5% for mixed designs. The removal of P in HRAPs can be linked to two mechanisms: the incorporation through the biomass or by chemical precipitation [53]. Both mechanisms may have occurred during the experiment because, with the increase in the concentration of chl- α and VSS, there is a biomass growth capable of assimilating the soluble P. In addition, there was an increase of approximately 3 units in the pH of the medium associated with the photosynthetic action, reaching values close to 10 (Figure 1a), which favors removal through chemical precipitation. Couto et al. [16] achieved P removal efficiency results in DS in the range of 7 to 58%. Young et al. [53] reported P removals by treatments with microalgae technology between 10 and 97%, with a median of 42.7%. The maximum value of 75.5% of P removal, reached by the D2 mixture, may be related to chemical precipitation since, in this mixture, the highest pH value was observed throughout the operation.

The mixtures that involved concentrations of PBE in their composition initially presented the same solvents obtained in the raw effluent (Table S2 - ethylbenzene, toluene, and xylene) in concentrations proportional to the volume of PBE in the culture medium. In all treatments, there was complete removal of the solvents found, not showing their concentrations at the end of the batch. These removals may be associated with the assimilation mechanisms of the compounds by the algae and the volatility of the solvents. [13]. The assimilation could not be computed since the suspended algae biomass was disregarded in the analysis because of sample filtration. Volatilization may have been the favored mechanism, mainly due to the long batch time (24 days) and the temperature of the culture media, reaching maximum values of 27 °C.

Nitrogen is one of the macronutrients necessary for microalgal growth and is consumed during its development. During algae growth, this element may be present in the forms of organic nitrogen (Norg), ammonium ion (NH_4^+), free ammonia (NH_3), and nitrate (NO_3^-), which together represent total nitrogen (TN). Figure 3 presents the nitrogen forms for each of the four weeks of operation.

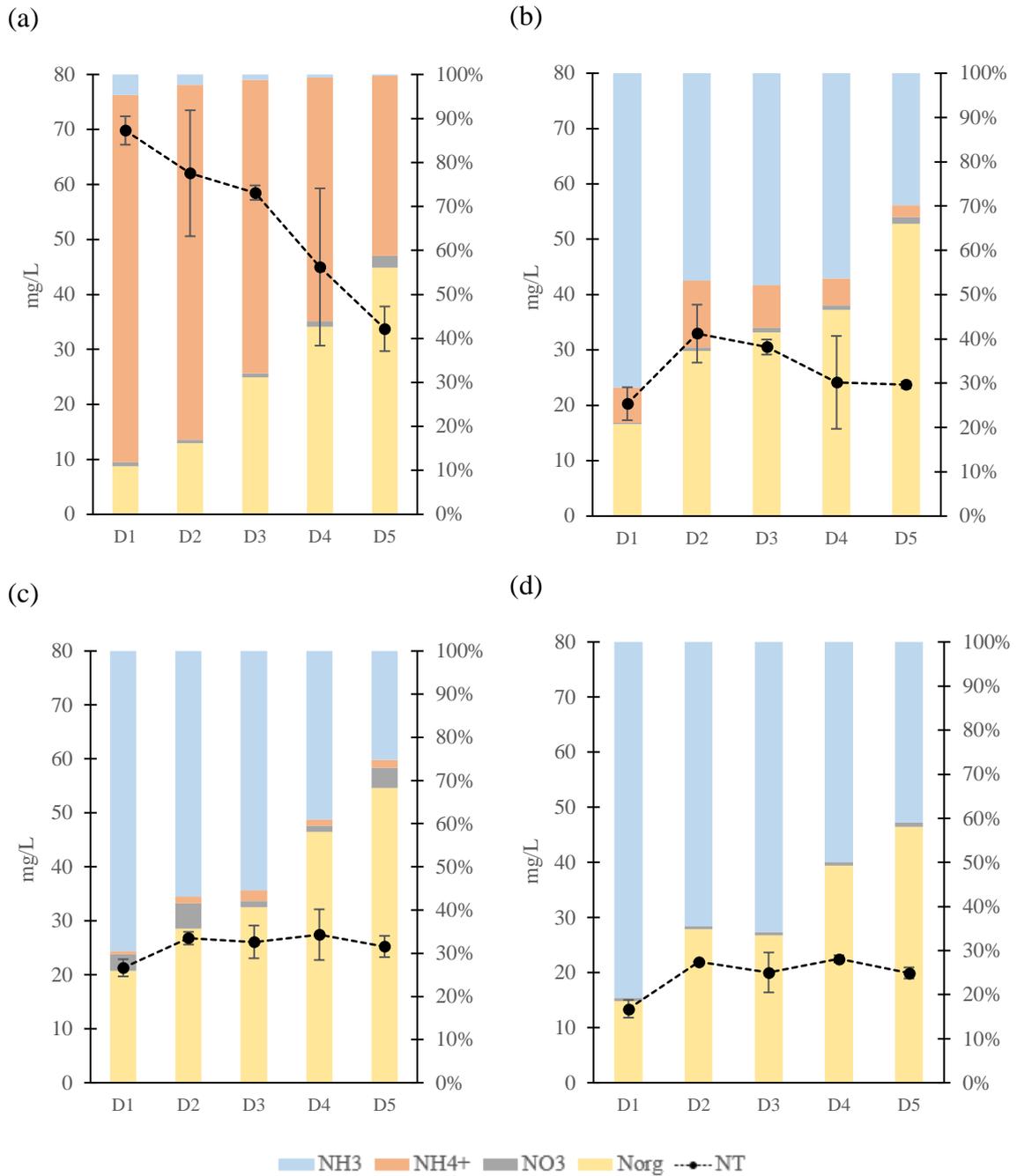


Figure 4 – Percentage (%) of nitrogenous components in each week of operation, (a) 1st week, (b) 2nd week, (c) 3rd week, and (d) 4th week. Source: Author (2023).

In the first week (Figure 4a), the presence of ionized ammonia (NH_4^+) in the medium is evident, with the highest concentrations in the mixtures with the highest proportions of DS. A sharp drop in this compound was observed in the second week (Figure 4b), followed by an increase mainly in Norg and NH_3 . The assimilation mechanism may have little influence on the initial reduction in NH_4^+ concentration, mainly from the first to the second week, which is

corroborated by the growth of algal biomass (Figure 1c). However, with a higher concentration of algae, there was greater photosynthetic activity and, therefore, an increase in the pH of the medium (Figure 1a), leading to the formation of free ammonia (NH₃) and its volatilization. This mechanism was predominant in nitrogen removal until the end of the experiment, with significant accumulated fractions of NH₃, totaling 81% in D1 and 41% in D5.

Nitrogen balance between the second and third weeks was similar, emphasizing the increase in NO₃⁻ concentration, followed by the reduction in total ammonia nitrogen contents. The development of nitrifying bacteria, responsible for the nitrification mechanism, may have been favored by the long operating time and pH values lower than 9 [16] until the beginning of the third week, with the highest increase in the D2 mixture (5% increase) (Figure 4c). And its drop from the third to the fourth week was caused by the rise in pH to non-ideal values for nitrifying bacteria. At the end of the batch (Figure 4d), the predominant component in the effluent was Norg, which is the fraction assimilated by the microalgae biomass in the mixes.

3.3 - Phytoplanktonic community and biochemical characterization of biomass

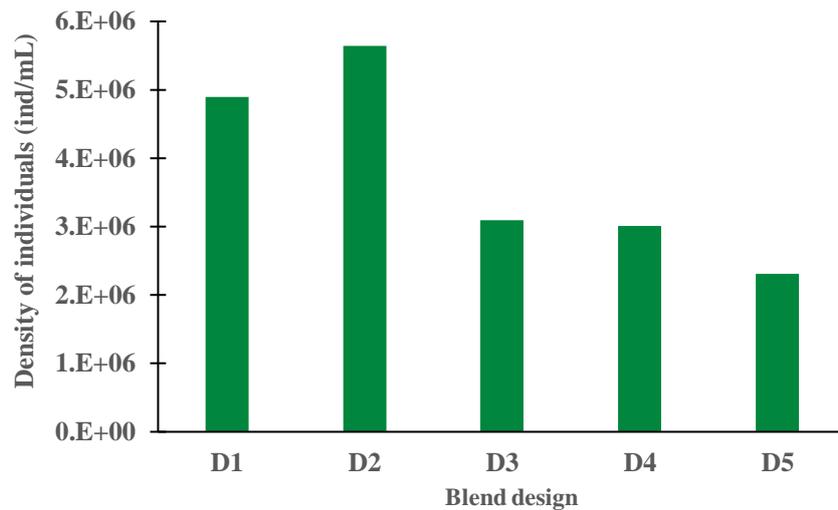
The mixture between the two effluents did not cause a significant difference in the number of microalgae individuals between the different mixtures. All treatments presented a density of microalgae organisms of 10⁶ individuals/mL, with no variation in this magnitude between the mixtures. The compositions with higher DS contents and thus higher concentrations of nutrients (D1 and D2) had the highest densities of individuals (ind) per mL numerically, being respectively 4,893,350 and 5,642,268 ind/mL (Figure 5a).

In Figure 5b, it is evident that most (86.5%) of the microalgae in the inoculum was composed of *Chlorella vulgaris*, followed by the coenobium of *Tetradesmus*, *Tetradesmus* sp. and *Tetradesmus obliquus*. These species are autochthonous and grow naturally. In the mixtures during operation, the species that stood out was *Chlorella vulgaris*, followed by *Tetradesmus obliquus*, *Tetradesmus* sp., and *Tetradesmus coenobium*, species belonging to the Chlorophyta family [54]. In works carried out in the exact geographical location as the present study, *Chlorella vulgaris* was also highlighted, with relative dominance above 60% in HRAPs treating DS [16,19,55].

It was impossible to affirm the PBE mixture's effect on the species composition. In mixtures D1, D3 and D5, there was a higher number of *Chlorella vulgaris*, while in mixtures D2 and D4, there was a predominance of species of the genus *Tetradesmus* sp. Compared to the other species, it should be noted that the microalgae of the *Chlorella* genus prefer

nutritionally rich environments, supporting high organic loads and presenting a high growth rate [16]. The presence of *Tetradesmus* sp. is supported by the study of Su et al. [54], who reports that this genus can develop in unfavorable environments, with low concentrations of nutrients and under thermal and light stress and can grow mixotrophically and heterotrophically in wastewater.

(a)



(b)

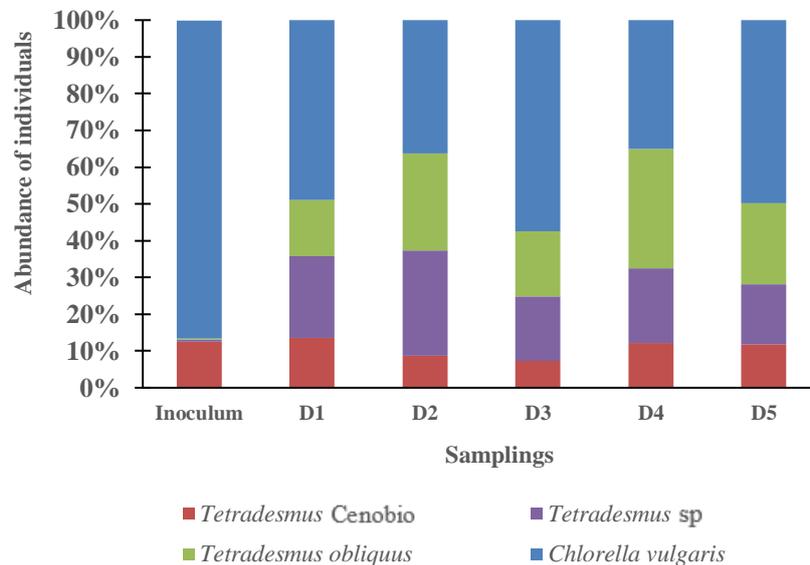


Figure 5 – Phytoplanktonic composition in (a) individual density and (b) abundance. Source: Author (2023).

Table 3 presents the biomass characterization for the different mixtures after the operation.

Table 3 – Characterization of dry biomass by mixture design (mean values and standard deviation, in parentheses).

	% Total lipids	% Carbohydrates	% Proteins	% Ashes
D1	16.2 (3.2) _A	27.3 (11.9) _A	22.8 (1.9) _{AB}	13.9 (2.7) _E
D2	13.6 (2.3) _{AB}	11.2 (5.1) _C	24.9 (0.8) _A	19.7 (1.1) _D
D3	12.67 (1.1) _B	19.1 (5.8) _B	21.4 (0.6) _B	26.9 (3.1) _C
D4	11.1 (0.7) _{BC}	7.9 (3.3) _C	23.3 (3.0) _{AB}	35.5 (0.6) _B
D5	8.4 (0.2) _C	9.3 (3.1) _C	14.3 (1.6) _C	44.7 (0.9) _A

Letters represent significance (by Fisher's test) between treatments, different letters indicate statistical differences (p-value > 0.05). Source: Author (2023).

The biochemical composition of biomass is linked to the concentration of dominant species in the medium and the elements that make up this medium [56]. It is observed that the increase of PBE in the culture medium led to a decrease in the total lipid content of the biomass, with the D1 mixture presenting 52.3% more lipids than D5. Cultivation conditions and the nutritional regime are essential factors for the accumulation of lipids by algae. Studies show that nutritional deficiency, mainly nitrogen and phosphorus, can lead algae to concentrate more lipids in their cells [57,58], especially neutral lipids [59]. Contrary to these studies, the increase in PBE and the consequent decrease in nutrients reduced lipid accumulation, especially neutral lipids. This fact may be associated with the low OM content in the biomass (which, according to the TOC analysis of the biomass, ranged from 38%, for D1 and D2, to 27% for D5), which affects, in general, the accumulation of lipids [59]. In addition, the decrease in lipid content may be associated with the presence of solvents (Table S2), which can interfere with algae metabolism, affecting algal organelles and lipid composition [13].

In general, the synthesis of carbohydrates by algae is associated with the presence of macro and micronutrients in the culture medium, as well as the predominant form of carbon (inorganic or organic) [60] and the algal growth period [61]. In the present study, the growth period was not a decisive factor since all treatments had the same duration. Mixture D1 had the highest carbohydrate content, 27.3%, followed by D3 (19.1%) and the other mixtures, which remained around 10% carbohydrates in their composition. Hernández-García et al. [61] evaluated the mixture of two effluents (one being DS) under the effect of nutrient limitation and obtained contents of 41% of carbohydrates in microalgae. Contrary to the study presented,

the decrease in the concentration of nutrients in the medium did not favor the algae's accumulation and synthesis of carbohydrates. The stress generated by the increase of PBE in the medium may have led the algae to degrade the carbohydrates in their cells [61] since the presence of solvents can affect microalgal metabolism [13].

The carbohydrate produced by the algal cell can act as an energy storage or structural molecule [62]. In this context, the production of carbohydrates by algal cell metabolism is complex, for example, the presence of phosphate in the culture medium can facilitate its formation, acting as an intermediary molecule [63]. The nitrogen source used also influences the biochemical composition of the cell, with the depletion of nitrogenous compounds associated with carbohydrate synthesis [64]. Mixture D2 showed the highest levels of NH_4^+ and NO_3 for two consecutive weeks (Figure 4b and 4c), which may have influenced a lower synthesis of carbohydrates when compared to mixtures D1 and D3.

There was also a statistical difference between treatments for protein accumulation by biomass. The biomass produced by treatment D2 (18.75% PBE) had the highest protein content, unlike the biomass produced in D5 (75% PBE), with the lowest protein concentration in its composition. Less PBE in the culture medium leads to a lower concentration of nutrients, especially nitrogen. As evidenced in section 3.2 (Table 2), the D5 mixture had a lower initial concentration of ammonia nitrogen. In their study, Razzak et al. [65] stated that these molecules are relevant in terms of their metabolic and structural role and showed that the protein content in algal species could vary. Still, under ideal conditions, it can be greater than 40% [65]. Among the other compounds, protein stood out with the highest content in the biomass of all mixtures (except for mixture D1). Its importance is mainly from a nutritional point of view and can be used in animal supplementation [56].

From the results, it is observed that the higher the concentration of PBE in the mixture, the higher the ash content of the biomass. Oliveira et al. [56] stated that the ash content in the algae biomass is linked to the characteristics of the environment in which they are found and how the cultivation took place. Thus, the addition of PBE in the medium influenced the higher ash content since this effluent has a higher concentration of fixed suspended solids when compared to DS and has higher concentrations of SSed, 19.5 mL/L (Table S2). The latter comes from particulate matter suspended in the industry air and sawdust and wood dust from the cutting stages [7]. The high ash content can reduce the calorific value of microalgae biomass [56] and harm the possible production of biofuels. However, these ashes may contain considerable nutrient concentrations and enable biomass use for soil application [66].

4 - CONCLUSIONS

The microalgal growth in mixtures between PBE and DS was technically feasible, verifying that percentages of PBE between 0 and 40% were the best for algal growth, with the optimal value established by the regression model of 19.75% of PBE. Values greater than 40% discouraged the development of microalgae, mainly due to the lack of nutrients for its development, negatively affecting biomass production. However, the insertion and increase of PBE concentrations in the medium positively affected the bioremediation performance of HRAPs, indicating the possibility of biological treatment and applicability on an industrial scale. PBE contributed to supplying organic carbon to the biomass, collaborating with the consortium between algae and bacteria. Among the biochemical compounds of economic relevance in the generated biomass, the most promising uses would be those in proteins and ash, opening space for new research. In the industrial context, higher concentrations of PBE in the culture medium would be economically favorable, as companies could invest in a single treatment system, enabling joint effluent remediation from a biological and simple system.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thankfully acknowledge the financial support of The Minas Gerais Research Funding Foundation – FAPEMIG (grant number APQ-00114/2021).

5 – REFERENCES

- [1] G.A. Kravchenko, A. Pasqualetto, E. de M. Ferreira, Aplicação de princípios da ecologia industrial nas empresas moveleiras de Goiás, Engenharia Sanitaria e Ambiental. (2016). <https://doi.org/10.1590/s1413-41522016139073>.
- [2] A. Farooq, S. Valizadeh, G.H. Rhee, J. Lee, J. Jae, S.-C. Jung, W.-H. Chen, Y.-K. Park, Valorization of furniture industry-processed residue via catalytic pyrolysis with methane, Energy Convers Manag. 261 (2022) 115652. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115652>.
- [3] A. Szczurek, M. Maciejewska, Ż. Zajiczek, K. Mościcki, Detection of emissions from the combustion of wood-based materials being furniture industry waste, Atmos Pollut Res. 12 (2021) 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2020.11.018>.
- [4] R.T. Kapoor, M. Danish, R.S. Singh, M. Rafatullah, A.K. H.P.S., Exploiting microbial biomass in treating azo dyes contaminated wastewater: Mechanism of degradation and factors affecting microbial efficiency, Journal of Water Process Engineering. 43 (2021) 102255. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102255>.

- [5] I.B.T.M. Bolonhesi, C.L. Andreani, J.D.P. Theodoro, A. Fazolo, D.D. Lopes, Formaldehyde biodegradation in an ASBR-SBR system: an effective treatment solution for furniture industry painting booth wastewater, *International Journal of Environmental Science and Technology*. 19 (2022) 3075–3086. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03276-4>.
- [6] A.R.L. Santos, S.F. Aquino, C.F. Carvalho, L.A. Vieira, E.S.J. Gontijo, Caracterização e tratabilidade biológica dos efluentes líquidos gerados em cabines de pintura de uma indústria moveleira, *Engenharia Sanitaria e Ambiental*. 15 (2010) 357–366. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522010000400008>.
- [7] I.B. de T.M. Bolonhesi, D.D. Lopes, K.V.M.C. Prates, Diagnóstico ambiental no processo produtivo de indústrias moveleiras de pequeno porte, *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*. 9 (2017) 320–334. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.002.0026>.
- [8] J. Ahmed, A. Thakur, A. Goyal, CHAPTER 1. Industrial Wastewater and Its Toxic Effects, in: 2021: pp. 1–14. <https://doi.org/10.1039/9781839165399-00001>.
- [9] K. Li, Q. Liu, F. Fang, R. Luo, Q. Lu, W. Zhou, S. Huo, P. Cheng, J. Liu, M. Addy, P. Chen, D. Chen, R. Ruan, Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review, *Bioresour Technol*. 291 (2019) 121934. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934>.
- [10] H. Mendonça, P. Assemany, M. Abreu, E. Couto, A.M. Maciel, R.L. Duarte, M.G. Barbosa dos Santos, A. Reis, Microalgae in a global world: New solutions for old problems?, *Renew Energy*. 165 (2021) 842–862. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.11.014>.
- [11] A.F. Santiago, M.L. Calijuri, P.P. Assemany, M. do C. Calijuri, A.J.D. dos Reis, Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent, *Environ Technol*. 34 (2013) 1877–1885. <https://doi.org/10.1080/09593330.2013.812670>.
- [12] B. Xie, W. Gong, X. Tang, L. Bai, Y. Guo, J. Wang, J. Zhao, Y. Fan, G. Li, H. Liang, Blending high concentration of anaerobic digestion effluent and rainwater for cost-effective *Chlorella vulgaris* cultivation in the photobioreactor, *Chemical Engineering Journal*. 360 (2019) 861–865. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.12.009>.
- [13] K. Miazek, L. Kratky, R. Sulc, T. Jirout, M. Aguedo, A. Richel, D. Goffin, Effect of Organic Solvents on Microalgae Growth, Metabolism and Industrial Bioproduct Extraction: A Review, *Int J Mol Sci*. 18 (2017) 1429. <https://doi.org/10.3390/ijms18071429>.
- [14] D. Manhaeghe, T. Blomme, S.W.H. van Hulle, D.P.L. Rousseau, Experimental assessment and mathematical modelling of the growth of *Chlorella vulgaris* under photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions, *Water Res*. 184 (2020) 116152. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116152>.

- [15] T.C. de Assis, M.L. Calijuri, P.P. Assemany, A.S.A. de P. Pereira, M.A. Martins, Using atmospheric emissions as CO₂ source in the cultivation of microalgae: Productivity and economic viability, *J Clean Prod.* 215 (2019) 1160–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.093>.
- [16] E. Couto, M.L. Calijuri, P. Assemany, P.R. Cecon, Evaluation of high rate ponds operational and design strategies for algal biomass production and domestic wastewater treatment, *Science of The Total Environment.* 791 (2021) 148362. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148362>.
- [17] E.A. Couto, M.L. Calijuri, P.P. Assemany, M.H.B. Souza, Effect of depth of high-rate ponds on the assimilation of CO₂ by microalgae cultivated in domestic sewage, *Environ Technol.* 39 (2018) 2653–2661. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1364302>.
- [18] P.P. Assemany, M.L. Calijuri, M.D. Tango, E.A. Couto, Energy potential of algal biomass cultivated in a photobioreactor using effluent from a meat processing plant, *Algal Res.* 17 (2016) 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.018>.
- [19] P.P. Assemany, M.L. Calijuri, E. de A. do Couto, M.H.B. de Souza, N.C. Silva, A. da F. Santiago, J. de S. Castro, Algae/bacteria consortium in high rate ponds: Influence of solar radiation on the phytoplankton community, *Ecol Eng.* 77 (2015) 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.01.026>.
- [20] A.F. Mohd Udaiyappan, H.A. Hasan, M.S. Takriff, S.R.S. Abdullah, T. Maeda, N.A. Mustapha, N.H. Mohd Yasin, N.I. Nazashida Mohd Hakimi, Microalgae-bacteria interaction in palm oil mill effluent treatment, *Journal of Water Process Engineering.* 35 (2020) 101203. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101203>.
- [21] P. Bohutskyi, D.C. Kligerman, N. Byers, L.K. Nasr, C. Cua, S. Chow, C. Su, Y. Tang, M.J. Betenbaugh, E.J. Bouwer, Effects of inoculum size, light intensity, and dose of anaerobic digestion centrate on growth and productivity of *Chlorella* and *Scenedesmus* microalgae and their poly-culture in primary and secondary wastewater, *Algal Res.* 19 (2016) 278–290. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.010>.
- [22] A.P.H.A. APHA, Standard methods for the examination of water and wastewater, 22nd ed., Washington, D.C., USA, 2012.
- [23] E. de A. do Couto, M.L. Calijuri, P.P. Assemany, M.D. Tango, A. da Fonseca Santiago, Influence of solar radiation on nitrogen recovery by the biomass grown in high rate ponds, *Ecol Eng.* 81 (2015) 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.04.040>.
- [24] N.N. (NEN 6520) NEN, Dutch standard on the determination of chlorophyll a by the ethanol method, 1981.
- [25] E.A. Nush, Comparison of Different Methods for Chlorophyll and Phaeopigment Determination, *Arch Hydrobiol.* 14 (1980) 4–36.
- [26] D. Hala, R. Moghazy, R. Mahmoud, Environmental factors controlling algal species succession in High Rate Algal Pond, *Egypt J Chem.* 0 (2020) 0–0. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2020.38324.2788>.

- [27] G.T. Ding, N.H. Mohd Yasin, M.S. Takriff, K.F. Kamarudin, J. Salihon, Z. Yaakob, N.I.N. Mohd Hakimi, Phycoremediation of palm oil mill effluent (POME) and CO₂ fixation by locally isolated microalgae: *Chlorella sorokiniana* UKM2, *Coelastrella* sp. UKM4 and *Chlorella pyrenoidosa* UKM7, *Journal of Water Process Engineering*. 35 (2020) 101202. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101202>.
- [28] H. Utermohl, Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik, *Mitteilungen Der Internationalen Vereinigung Für Theoretische Und Angewandte Limnologie*. 9 (1958) 1–38.
- [29] O. Parra, P. Rivera, M. v Orellana, Influences the UV radiations in the primary productivity View project Biogeochemical and physical characterization of Arctic sea ice at the end of its melt season View project, 1982. <https://www.researchgate.net/publication/316784610>.
- [30] J. KOMAREK, B. FOTT, *Das Phytoplankton des Süßwasser Systematik und Biologie Teil 7,1., Die Binnengewässer, Begründet von August Thienemann, Stuttgart.Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung*, 1983.
- [31] Algaebase, Algaebase, (2023).
- [32] A. of O.A.C. AOAC, *Official Methods of Analysis*, 17th ed., Washington DC, 2000.
- [33] C. Hoebler, J.L. Barry, A. David, J. Delort-Laval, Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography, *J Agric Food Chem*. 37 (1989) 360–367. <https://doi.org/10.1021/jf00086a020>.
- [34] Michel. DuBois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, Fred. Smith, Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal Chem*. 28 (1956) 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- [35] W. Zhong, Z. Zhang, Y. Luo, W. Qiao, M. Xiao, M. Zhang, Biogas productivity by co-digesting Taihu blue algae with corn straw as an external carbon source, *Bioresour Technol*. 114 (2012) 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.111>.
- [36] I.B. Magalhães, A.S.A. de P. Pereira, T.A. Silva, N. dos S. Renato, Predicting the higher heating value of microalgae biomass based on proximate and ultimate analysis, *Algal Res*. 64 (2022) 102677. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102677>.
- [37] S.M.Z. Hossain, N. Sultana, S.A. Razzak, M.M. Hossain, Modeling and multi-objective optimization of microalgae biomass production and CO₂ biofixation using hybrid intelligence approaches, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 157 (2022) 112016. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.112016>.
- [38] Md.H. Ali, I. Abustan, A new novel index for evaluating model performance, *Journal of Natural Resources and Development*. (2014). <https://doi.org/10.5027/jnrd.v4i0.01>.
- [39] A. Solimeno, J. García, Microalgae and bacteria dynamics in high rate algal ponds based on modelling results: Long-term application of BIO_ALGAE model, *Science of The*

- Total Environment. 650 (2019) 1818–1831. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.345>.
- [40] T.A. Khan, R. Liaquat, Zeshan, A.H. Khoja, A. Bano, Biological carbon capture, growth kinetics and biomass composition of novel microalgal species, *Bioresour Technol Rep.* 17 (2022) 100982. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100982>.
- [41] R. Liu, S. Li, Y. Tu, X. Hao, F. Qiu, Recovery of value-added products by mining microalgae, *J Environ Manage.* 307 (2022) 114512. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114512>.
- [42] A. Solimeno, L. Parker, T. Lundquist, J. García, Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds, *Science of The Total Environment.* 601–602 (2017) 646–657. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.215>.
- [43] D.L. Sutherland, J. Park, P.J. Ralph, R. Craggs, Ammonia, pH and dissolved inorganic carbon supply drive whole pond metabolism in full-scale wastewater high rate algal ponds, *Algal Res.* 58 (2021) 102405. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102405>.
- [44] T.A. Costache, F.G. Acién Fernández, M.M. Morales, J.M. Fernández-Sevilla, I. Stamatina, E. Molina, Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors, *Appl Microbiol Biotechnol.* 97 (2013) 7627–7637. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5035-2>.
- [45] N. Talapatra, R. Gautam, V. Mittal, U.K. Ghosh, A comparative study of the growth of microalgae-bacteria symbiotic consortium with the axenic culture of microalgae in dairy wastewater through extraction and quantification of chlorophyll, *Mater Today Proc.* (2021). <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.06.227>.
- [46] S. Gupta, R.A. Pandey, S.B. Pawar, Bioremediation of synthetic high-chemical oxygen demand wastewater using microalgal species *Chlorella pyrenoidosa*, *Bioremediat J.* 21 (2017) 38–51. <https://doi.org/10.1080/10889868.2017.1282936>.
- [47] L. Wang, M. Min, Y. Li, P. Chen, Y. Chen, Y. Liu, Y. Wang, R. Ruan, Cultivation of Green Algae *Chlorella* sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant, *Appl Biochem Biotechnol.* 162 (2010) 1174–1186. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8866-7>.
- [48] V. Veloso, A. Reis, L. Gouveia, H.L. Fernandes, J.A. Empis, J.M. Novais, Lipid production by *Phaeodactylum tricornutum*, *Bioresour Technol.* 38 (1991) 115–119. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(91\)90141-6](https://doi.org/10.1016/0960-8524(91)90141-6).
- [49] D.L. Sutherland, M.H. Turnbull, P.A. Broady, R.J. Craggs, Effects of two different nutrient loads on microalgal production, nutrient removal and photosynthetic efficiency in pilot-scale wastewater high rate algal ponds, *Water Res.* 66 (2014) 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.010>.
- [50] E. Couto, M.L. Calijuri, P. Assemany, Biomass production in high rate ponds and hydrothermal liquefaction: Wastewater treatment and bioenergy integration, *Science of*

- The Total Environment. 724 (2020) 138104. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138104>.
- [51] C. Zhu, S. Chen, Y. Ji, U. Schwaneberg, Z. Chi, Progress toward a bicarbonate-based microalgae production system, *Trends Biotechnol.* 40 (2022) 180–193. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.06.005>.
- [52] P. Xu, J. Li, J. Qian, B. Wang, J. Liu, R. Xu, P. Chen, W. Zhou, Recent advances in CO₂ fixation by microalgae and its potential contribution to carbon neutrality, *Chemosphere.* 319 (2023) 137987. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137987>.
- [53] P. Young, M. Taylor, H.J. Fallowfield, Mini-review: high rate algal ponds, flexible systems for sustainable wastewater treatment, *World J Microbiol Biotechnol.* 33 (2017) 117. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2282-x>.
- [54] M. Su, M. Dell’Orto, G. D’Imporzano, A. Bani, A.J. Dumbrell, F. Adani, The structure and diversity of microalgae-microbial consortia isolated from various local organic wastes, *Bioresour Technol.* 347 (2022) 126416. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126416>.
- [55] L.R. Assis, M.L. Calijuri, P.P. Assemany, T.A. Silva, J.S. Teixeira, Innovative hybrid system for wastewater treatment: High-rate algal ponds for effluent treatment and biofilm reactor for biomass production and harvesting, *J Environ Manage.* 274 (2020) 111183. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111183>.
- [56] A.P. de S. Oliveira, P. Assemany, J.I. Ribeiro Júnior, L. Covell, A. Nunes-Nesi, M.L. Calijuri, Swine wastewater treatment in high rate algal ponds: Effects of Cu and Zn on nutrient removal, productivity and biomass composition, *J Environ Manage.* 299 (2021) 113668. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113668>.
- [57] K.K. Sharma, H. Schuhmann, P.M. Schenk, High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production, *Energies (Basel).* 5 (2012) 1532–1553. <https://doi.org/10.3390/en5051532>.
- [58] C. Zhang, Y. Zhang, B. Zhuang, X. Zhou, Strategic enhancement of algal biomass, nutrient uptake and lipid through statistical optimization of nutrient supplementation in coupling *Scenedesmus obliquus*-like microalgae cultivation and municipal wastewater treatment, *Bioresour Technol.* 171 (2014) 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.060>.
- [59] P. Singh, S. Kumari, A. Guldhe, R. Misra, I. Rawat, F. Bux, Trends and novel strategies for enhancing lipid accumulation and quality in microalgae, *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 55 (2016) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.001>.
- [60] C.E. Solís-Salinas, G. Patlán-Juárez, P.U. Okoye, A. Guillén-Garcés, P.J. Sebastian, D.M. Arias, Long-term semi-continuous production of carbohydrate-enriched microalgae biomass cultivated in low-loaded domestic wastewater, *Science of The Total Environment.* 798 (2021) 149227. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149227>.

- [61] A. Hernández-García, S.B. Velásquez-Orta, E. Novelo, I. Yáñez-Noguez, I. Monje-Ramírez, M.T. Orta Ledesma, Wastewater-leachate treatment by microalgae: Biomass, carbohydrate and lipid production, *Ecotoxicol Environ Saf.* 174 (2019) 435–444. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>.
- [62] D. Xing, X. Li, Y. Wang, S. Deng, C. Jin, Y. Zhao, L. Guo, The comprehensive impact of phosphorus sources on microalgae biochemical metabolism and phosphorus transformation, *Journal of Water Process Engineering.* 51 (2023) 103477. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.103477>.
- [63] S. Mustafa, H.N. Bhatti, M. Maqbool, M. Iqbal, Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities, *Journal of Water Process Engineering.* 41 (2021) 102009. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102009>.
- [64] C.-Y. Chen, X.-Q. Zhao, H.-W. Yen, S.-H. Ho, C.-L. Cheng, D.-J. Lee, F.-W. Bai, J.-S. Chang, Microalgae-based carbohydrates for biofuel production, *Biochem Eng J.* 78 (2013) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.006>.
- [65] S.A. Razzak, R.A. Lucky, M.M. Hossain, H. deLasa, Valorization of Microalgae Biomass to Biofuel Production: A review, *Energy Nexus.* 7 (2022) 100139. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100139>.
- [66] G.S. Diniz, A.F. Silva, O.Q.F. Araújo, R.M. Chaloub, The potential of microalgal biomass production for biotechnological purposes using wastewater resources, *J Appl Phycol.* 29 (2017) 821–832. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0976-3>.

6 - SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1 - Frequency and methodology of analyzes throughout the experimental batch.

Analysis	Frequency	Analysis method
N-NH ₄ ⁺	3 times a week	APHA (2012) 4500-NH3 C
NO ₃ ⁻	3 times a week	APHA (2012) 4500-NO3A
TKN	1 time a week	APHA (2012) 4500-Norg B
P dissolved	1 time a week	APHA (2012) 4500-P D
COD dissolved	1 time a week	APHA (2012) 5220 D
TSS and VSS	1 time a week	APHA (2012) 2540
chl- α	3 times a week	APHA (2012); NEN (1981); Nush (1980)
Dissolved carbon	3 times a week	Shimadzu TOC 5000 Analyzer
pH	Daily	Hach probe HQ30D/LDO model
DO	Daily	Hach probe HQ30D/LDO model
TEMP	Daily	Hach probe HQ30D/LDO model

Source: Author (2023).

Table S2 - Characterization of raw effluents.

Variables		Effluent	
		DS	PBE
		Mean (standard deviation)	
COD _{Total} (mg/L)		217.5 (35.4)	3680.0 (141.4)
COD _{Soluble} (mg/L)		197.5 (0.0)	3231.3 (26.5)
P _{Total} (mg/L)		6.5 (0.4)	4.4 (0.8)
P _{Soluble} (mg/L)		3.9 (0.0)	0.2 (0.0)
TKN (mg/L)		111.6	13.7
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)		67.2 (2.2)	0.0 (0.0)
NO ₃ ⁻ (mg/L)		0.6	0.5
Carbon (mg/L)	TC	72.4	490.8
	TOC	11.4	489.3
	IC	61.0	1.4
Suspended solids (mg/L)	TSS	108.0 (14.1)	480.0 (56.6)
	FSS	10.0 (0.0)	46.7 (14.1)
	VSS	98.0 (14.1)	423.3 (42.3)
SSed		19.5 (1.5)	1.3 (0.8)
pH		6.9	5.9
DO (mg/L)		0.3	0.4
TEMP (°C)		19.3	19.0
Solvents (µg/L)	Ethylbenzene	-	145.0
	Total xylene	-	53.9
	Toluene	-	192.0

Source: Author (2023).

Table S3 - Initial characterization of mixtures between effluents.

Variables	Blends					
	D1	D2	D3	D4	D5	
	Mean (standard deviation)					
COD _{Soluble} (mg/L)	201.9 (62.8)	631.3 (70.7)	1160.7 (202.0)	1625.0 (132.6)	2343.8 (212.1)	
P _{Soluble} (mg/L)	4.6 (2.7)	1.8 (0.3)	1.0 (0.3)	0.5 (0.2)	0.2 (0.1)	
TKN (mg/L)	69.3 (3.2)	61.5 (14.2)	58.0 (1.8)	44.4 (17.3)	32.8 (4.6)	
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	61.6 (4.7)	51.5 (10.9)	39.8 (9.3)	25.4 (0.0)	13.9 (3.6)	
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0.6 (0.1)	0.5 (0.1)	0.6 (0.2)	0.6 (0.2)	0.9 (0.4)	
Carbon (mg/L)	TC	67.9 (5.6)	109.8 (9.3)	168.1 (15.2)	223.4 (11.9)	297.0 (31.2)
	TOC	31.4 (5.6)	71.8 (11.9)	140.3 (18.0)	208.0 (12.1)	288.1 (32.3)
	IC	43.0 (9.1)	38.0 (2.6)	27.8 (2.8)	15.45 (0.3)	8.9 (0.2)
Suspended solids (mg/L)	TSS	117.9 (28.9)	154.2 (10.6)	218.7 (4.2)	241.7 (63.6)	265.3 (29.5)
	FSS	19.2 (8.2)	23.3 (11.8)	41.9 (21.5)	72.5 (3.5)	49.2 (1.2)
	VSS	97.1 (29.1)	130.8 (24.6)	176.8 (21.9)	169.2 (56.3)	216.7 (54.8)
C:N:P _s	15:15:1	62:35:1	171:59:1	422:84:1	1237:137:1	
pH	7.5 (0.1)	7.3 (0.1)	7.2 (0.1)	6.9 (0.0)	6.8 (0.0)	
DO (mg/L)	4.79 (0.11)	0.04 (0.01)	0.08 (0.01)	0.05 (0.01)	0.05 (0.01)	
TEMP (°C)	18.4 (0.1)	18.5 (0.3)	18.4 (0.2)	18.2 (0.0)	18.2 (0.0)	

Source: Author (2023).

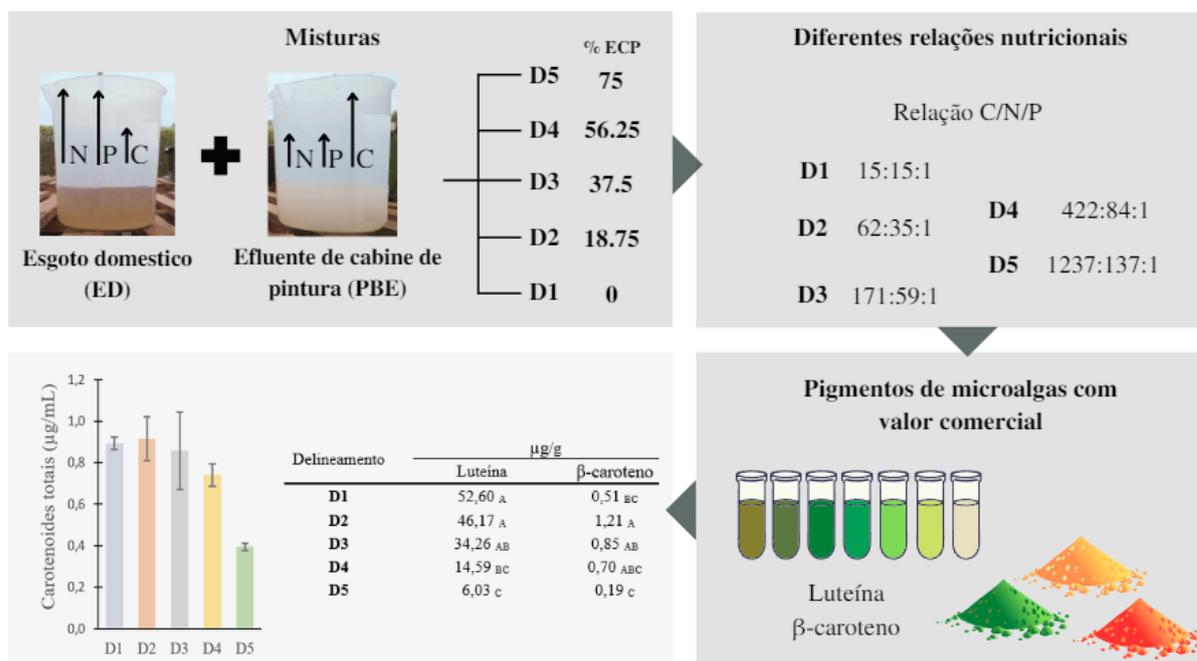
ARTIGO 3 – POTENCIAL DE PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES EM BIOMASSA ALGAL DURANTE O TRATAMENTO DE EFLUENTES EM LAGOAS DE ALTA TAXA COM DIFERENTES COMPOSIÇÕES NUTRICIONAIS: AVALIAÇÃO DA MISTURA DE EFLUENTE DA CABINE DE PINTURA E ESGOTO DOMÉSTICO

Resumo

O efluente de cabine de pintura (ECP), produzido durante o processo de envernizamento e pintura dos móveis de madeira foi testado como meio de cultivo e meio de suplementação de carbono em esgoto doméstico (ED) para o tratamento via lagoas de alta taxa e a produção de produtos de valor agregado em microalgas. O foco da pesquisa foi investigar os efeitos da composição nutricional do meio de cultivo no desenvolvimento algal e na produção de carotenoides, associado ao estresse do incremento de ECP no meio. Cinco misturas distintas entre o ECP e o ED foram realizadas, D1 (100% de ED); D2 (18,75% de ECP e 81,25% de ED); D3 (37,5% ECP e 62,5% ED); D4 (56,25% ECP e 43,75% ED); e D5 (75% ECP e 25% ED). Estas misturas implicaram alterações na composição nutricional dos meios, gerando mudanças na relação de carbono, nitrogênio e fósforo. Assim, a produtividade de biomassa variou para cada tratamento, e os melhores desempenhos foram observados em D1 (2,2 g/m².dia) onde a relação C/N/P foi de 15:15:1 seguido por D2 (2,0 g/m².dia, C/N/P = 62:35:1). Além disso, diferentes concentrações de biomassa algal foram geradas e cada uma com diferentes teores de carotenoides totais e específicos, entre eles a luteína e β -caroteno. A partir do estudo observou-se valores máximos de 53 μ g/g de luteína (D1) e 1,2 μ g/g de β -caroteno (D2). Estes resultados indicam possibilidade de fechamento de ciclo econômico em sistemas de tratamento de efluentes industriais, agregando valor ao tratamento de esgoto.

Palavras-chave: Microalgas; Produtos de valor agregado; β -caroteno; Luteína; Efluente industrial; Recuperação de Recursos.

RESUMO GRÁFICO



Fonte: Do autor (2023).

1 - INTRODUÇÃO

A biorremediação via microalgas remove os nutrientes e compostos orgânicos das mais variadas tipologias de efluentes, sendo considerada uma alternativa mais sustentável e econômica quando comparada aos métodos tradicionais de tratamento de efluentes (ABDELFATTAH et al., 2023). Adicionalmente, é possível agregar valor à biomassa de microalgas produzida por diversas rotas de aproveitamento (LI et al., 2019a; WHITTON et al., 2015). Dentre os produtos de maior valor agregado, destacam-se os pigmentos naturais como clorofilas, carotenos, xantofilas e ficobiliproteínas (PATEL et al., 2022). Suas aplicações incluem o uso como corantes naturais, suplementos alimentícios e energéticos, possuindo propriedades importantes para a saúde humana e animal, com funções antioxidantes, anticancerígenas e neuroprotetoras (PATEL et al., 2022), além de usos na indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia (ARASHIRO et al., 2022; CAETANO et al., 2022).

Ademais, carotenoides produzidos pela biomassa de algas, como é o caso da luteína e β-caroteno, são mais atrativos que os das plantas, possuindo maior interesse econômico (PATEL et al., 2022). O β-caroteno é um carotenoide primário produzido pelas plantas e microalgas, e o seu uso é altamente benéfico para o ser humano, possuindo efeito médico positivo. Além disso, esse pigmento pode ser usado no tratamento contra o câncer de mama

(ANTUNES et al., 2022), atuando contra os radicais livres presentes no corpo e agindo como antioxidantes (XIANG et al., 2022) e com efeitos anti-obesogênicos quando ocorre sua conversão para vitamina A (CORONEL et al., 2022). Já a luteína pertence ao grupo das xantofilas (SCHÜLER et al., 2020), amplamente produzidas por *Scenedesmus* spp. e *Chlorella* spp. (PATEL et al., 2022), possuem efeitos positivos contra o estresse oxidativo e distúrbios do espectro do autismo (VIANA et al., 2023) e possuem a capacidade de melhoria da função da retina em idosos (WALCHUK et al., 2022).

As algas são produtoras naturais de pigmentos comerciais bioativos, sendo estes parte importante do processo de captação de energia, auxiliando em processos como a fotossíntese e em condições de estresse (PATEL et al., 2022). Entretanto, para que se viabilize a produção em larga escala, é necessário que se garanta alta produtividade desses pigmentos na biomassa. Uma das formas de se estimular a produção desses pigmentos é a partir das condições de cultivo, geralmente, havendo maior acúmulo quando sob condições de estresse (MARKOU; NERANTZIS, 2013). Condições extremas levam as células a se protegerem, armazenando carbono e energia (CEZARE-GOMES et al., 2019). Dentre as condições de estresse que potencializam a produção de pigmentos como os carotenoides, destacam-se a alta intensidade luminosa, o estresse salino, a elevada temperatura (KALRA; GAUR; GOEL, 2021) e a deficiência nutricional (CEZARE-GOMES et al., 2019; MARKOU; NERANTZIS, 2013). Ademais, o estresse nutricional (carbono, nitrogênio e fósforo), que pode ser obtido por carência do meio de cultivo ou misturas de meios distintos, afeta a biossíntese de pigmentos, sendo a concentração dos elementos diretamente associado a produtividade (LIU et al., 2021). Além dos métodos isolados, a combinação de fatores estimulantes pode influenciar o aumento da produtividade e acúmulo dos produtos de alto valor (LI et al., 2021).

Ao realizar uma revisão detalhada da literatura, Liu et al. (2021) avaliaram os carotenoides presentes em fungos e microalgas. Estes autores observaram que as microalgas, quando comparadas às plantas superiores, crescem em maiores taxas (em especial as da família chlorophyceae), possuindo metabólitos voltados apenas para a produção de carotenoides e que os principais produzidos pelas espécies são a astaxantina e o β -caroteno. Além disso, outros estudos encontraram, em diferentes espécies microalgais, a presença de carotenoides como a fucoxantina, cantaxantina, violaxantina e a zeaxantina (BUSTAMAM et al., 2021; MINYUK et al., 2020; PANTAMI et al., 2020), reforçando o potencial produtivo de pigmentos pelas algas. Singh et al. (2020) avaliaram a produção e acúmulo de produtos de valor agregado em biomassa de microalgas cultivadas em meio sintético de cultivo, e destacaram a importância das fontes

de nutrientes para as microalgas na síntese de β -caroteno e que os compostos nitrogenados são essenciais para o acúmulo desta substância no interior das células. Teng et al. (2022) realizaram o cultivo microalgal em meio BG11 e avaliaram a suplementação de ácido aminobutírico e outros nutrientes na produção de proteínas e carotenoides pela biomassa algal. Cardoso et al. (2020) cultivaram a microalga *Spirulina* sp. em águas residuárias de aquicultura e suplementaram o meio com nutrientes, visando a produção de carotenoides pelas algas.

No caso do cultivo algal em águas residuárias, é necessária atenção adicional à composição do meio de cultivo. Apesar de reduzir os custos de produção pela utilização de matéria prima sustentável, efluentes distintos apresentam composição nutricional e bioquímica distintas que podem influenciar no rendimento de pigmentos. Os efluentes domésticos, por exemplo, apresentam em sua composição concentrações relevantes de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, ideais para o crescimento algal (ASSIS et al., 2020). Já o efluente de cabine de pintura é rico em carbono orgânico (BOLONHESI et al., 2022), o que o torna potencialmente importante como suplemento de carbono ao crescimento algal. No último caso, a depender da concentração, o alto teor de carbono pode ainda atuar como condicionante de estresse para estimular a produção de pigmentos protetivos, entre eles os carotenoides (Singh et al., 2020).

Entretanto, ainda há uma escassez de estudos publicados sobre a utilização de diferentes águas residuárias para a produção de produtos de valor agregado como os pigmentos. Nesse contexto, o objetivo dessa pesquisa é avaliar quanti e qualitativamente o potencial de acúmulo de carotenoides na biomassa de microalgas produzida sob condições nutricionais distintas em lagoas de alta taxa (LATs), a partir de diferentes misturas entre o esgoto doméstico (ED) e o efluente de cabine de pintura (ECP).

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Unidade experimental e delineamento de cultivo

O experimento foi realizado em 10 LATs e conduzido em casa de vegetação localizada no Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Diferentes misturas entre ECP e ED foram avaliadas por meio da variação de 0% a 100% as proporções dos efluentes. O ED utilizado foi previamente tratado em tanque séptico na Estação de Tratamento de Esgoto localizada no bairro Romão dos Reis, Viçosa – Minas Gerais. Já o ECP foi obtido a partir do tanque de recirculação da fábrica de móveis localizada no polo moveleiro de Ubá – Minas Gerais.

As LATs em escada de bancada utilizadas no estudo apresentam as seguintes características: comprimento de 72 cm; largura de 32 cm; profundidade total de 20 cm; profundidade útil 16 cm; área superficial de 2.084 cm² e volume útil de 33 litros. As lagoas são constituídas de fibra de vidro com 4 pás de aço inox, movidas por um motor elétrico de 1 cv, de marca WEG série CFW-10. O experimento foi delineado em blocos casualizados e distribuídas em centroide simples, dando origem a cinco tratamentos: D1 (100% de ED); D2 (18,75% de ECP e 81,25% de ED); D3 (37,5% ECP e 62,5% ED); D4 (56,25% ECP e 43,75% ED); e D5 (75% ECP e 25% ED).

2.2 Inóculo de microalgas

Antes da etapa de operação e monitoramento foi preparado um inóculo de microalgas. Um volume de 30 litros de ED foi previamente coletado e armazenado em um recipiente aberto sob a influência do meio ambiente. As espécies algais selvagens cresceram naturalmente no meio e se proliferaram. Ao atingir uma coloração verde escuro o inóculo estava apto para ser usado. Este visava confirmar a presença da comunidade algal nos tratamentos de misturas, garantindo o início do experimento no mesmo dia para todos os tratamentos.

2.3 Operação e monitoramento

As LATs foram operadas em regime de batelada durante um período de 24 dias, entre 10 de outubro a 03 de novembro de 2021. As águas residuárias utilizadas (ECP e ED), bem como as misturas em diferentes proporções (conforme item 2.1) foram caracterizadas. Seguindo a metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012), foram analisadas as variáveis nitrogênio Kjeldahl total (NKT), nitrogênio amoniacal e o fósforo solúvel (P). A partir do analisador Shimadzu TOC 5000, foram realizadas as análises de carbono total dissolvido (CT), carbono orgânico total dissolvido (COT) e carbono inorgânico total dissolvido (CI). A periodicidade de medição do nitrogênio amoniacal e os carbonos dissolvidos foi de 3 vezes por semana, já para o NKT e o P, uma vez por semana.

Ao longo do período do experimento, foram monitoradas in loco as variáveis temperatura e pH do meio de cultivo por meio da sonda multiparâmetro marca Hach (modelo HQ40d), às 12 h diariamente. Além disso, as variáveis ambientais radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e temperatura do ar (dentro e fora da casa de vegetação) também foram monitoradas diariamente às 12 h. A temperatura do ar dentro da casa de vegetação foi mensurada a partir de um termômetro de mercúrio. A temperatura do ar fora da casa de vegetação foi obtida a partir dos dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) estação A510 localizada dentro da

UFV. A PAR foi mensurada por meio de sensor Light Sensor Logger LI-COR, modelo LI-1500.

2.4 Caracterização da comunidade fitoplanctônica

A comunidade fitoplanctônica dos tratamentos foi caracterizada quantitativamente e qualitativamente a nível de gênero e espécies. Em termos quantitativos, o método de Uthermohl (1958) foi utilizado, em câmara de sedimentação com auxílio de microscópio invertido, para contagem dos indivíduos, seguida da determinação da densidade de organismos de acordo com APHA (2012). A identificação dos gêneros e espécies foi efetuada em microscópio invertido, como descrito por Parra et al. (1982) e Komarek e Fott (1983).

2.5 Produção de biomassa

A produção de biomassa em cada um dos delineamentos experimentais foi determinada por meio de análises semanais de sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV) e sólidos suspensos fixos (SSF), seguindo a metodologia 2540 de APHA (2012), ressaltando a correspondência dos SSV como a biomassa total. Para avaliar o crescimento dos organismos fotossintetizantes, como as microalgas, presentes nas LATs, foi mensurada a cada três dias a clorofila- α (chl- α) seguindo a metodologia proposta por NEN (1981) e Nush (1980). A partir deste monitoramento, foi calculada a produtividade (Pr) diária da biomassa primária e total para cada delineamento, por meio da Equação 1, onde X_t é a concentração (mg/m^2) no tempo t_x e X_0 é a concentração tempo inicial (t_0).

$$\text{Pr} = (X_t - X_0) / (t_x - t_0) \quad (1)$$

2.6 Análise de carotenoides totais e específicos

Os carotenoides totais de cada tratamento foram definidos por espectrofotometria, seguindo a metodologia proposta por Pancha et al. (2014) com adaptações na etapa de extração segundo Porra (1990). Para etapa da extração, inicialmente um volume de amostra de 5 mL foi centrifugado em uma centrífuga Hoffman (modelo HCL 4) a 4000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e 5 mL de metanol 99,9 % foram adicionados à biomassa centrifugada. Após a adição do metanol, as amostras foram agitadas e levadas ao banho-maria a 60 °C por 20 minutos. Em seguida, as amostras foram incubadas em estufa a 45 °C por 24 horas no escuro. Ao final deste período, foi realizada uma leitura em espectrofotômetro (Hach DR 3800) com os comprimentos de onda de 470, 652, 665 e 750 nm. Desta forma, o teor de pigmentos foi calculado de acordo com as equações:

$$\text{Chl-}\alpha = 16,72 * A_{665} - 9,16 * A_{652} \quad (2)$$

$$\text{Chl-}\beta = 16,72 * A_{652} - 9,16 * A_{665} \quad (3)$$

$$\text{Carot} = (1000 * A_{470} - 1,63 * \text{Chl-}\alpha - 104,96 * \text{Chl-}\beta) / 221 \quad (4)$$

Para a análise dos carotenoides específicos foram coletadas 50 mg de amostra da biomassa de algas seca e macerada. A biomassa foi saponificada com 10% (m/m) de hidróxido de sódio em solução aquosa, seguindo a metodologia descrita por Chan et al. (2013). Após saponificação a biomassa passou por 10 lavagens sucessivas com o solvente acetato de etila, visando a extração dos pigmentos existentes. Para identificação destes pigmentos foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) modelo Prominence UFLC Shimadzu (Japão), com coluna c18 de 4,6 x 250 mm, sob condições de fluxo de 1 ml por minuto, temperatura de 35°C e fase móvel binária. Foi utilizado um solvente A (metanol (97%), água deionizada (3%), acetato de amônio (5mM) e trietilamina (0,05%)) e um solvente B (terc butil metil éter e trietilamina (0,05%)), com detector PDA SPD-M20A e faixa de varredura de 190 a 800 nm. A corrida das amostras pela coluna foi realizada seguindo a metodologia de Chan et al. (2013). Para confirmação dos pigmentos obtidos nas análises com HPLC foram adquiridos padrões de astaxantina (97% de pureza, da marca Sigma), β -caroteno (93%, Sigma), clorofilas α e β (90%, Sigma-Aldrich), luteína (96%, Sigma-Aldrich/Supelco) e cantaxantina (95%, Supelco).

2.7 Análise estatística

O software Excel® foi utilizado para organização e tratamento dos resultados obtidos pelas análises. A análise estatística descritiva, os testes de significância e as análises de regressão foram realizados no software Minitab®. A análise de variância (ANOVA) foi realizada com validação manual, seguida da aplicação do teste de Fisher a 5% de significância para distinguir os resultados obtidos entre delineamentos. O efeito dos nutrientes presentes no meio de cultivo (carbono - C, nitrogênio -N, e fósforo - P), e suas concentrações iniciais em cada um dos delineamentos, para a produção e acúmulo de carotenoides, foi realizado por meio de análises de regressão linear e correlação. Estas análises avaliaram a relação entre os carotenoides totais, a luteína e o β -caroteno com as relações nutricionais C/N e N/P do meio.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Comunidade fitoplanctônica

As espécies encontradas pertencem à família Chlorophyta, considerada uma das mais importantes para a produção de carotenoides (GENÇ et al., 2020). Além disso, destaca-se a presença da espécie microalgal *Chlorella vulgaris*, com a maior abundância nos tratamentos

avaliados (acima de 35% do total) (Figura 1). As demais espécies foram *Tetrademus obliquus*, *Tetrademus sp.* e cenóbios de *Tetrademus*. É importante ressaltar que a densidade de indivíduos sofreu mudanças com base no delineamento de mistura, sendo D2 a mistura com maior densidade (5.642.268 ind/mL) e D5 com a menor (2.311.663 ind/mL), no entanto a ordem de grandeza permaneceu constante.

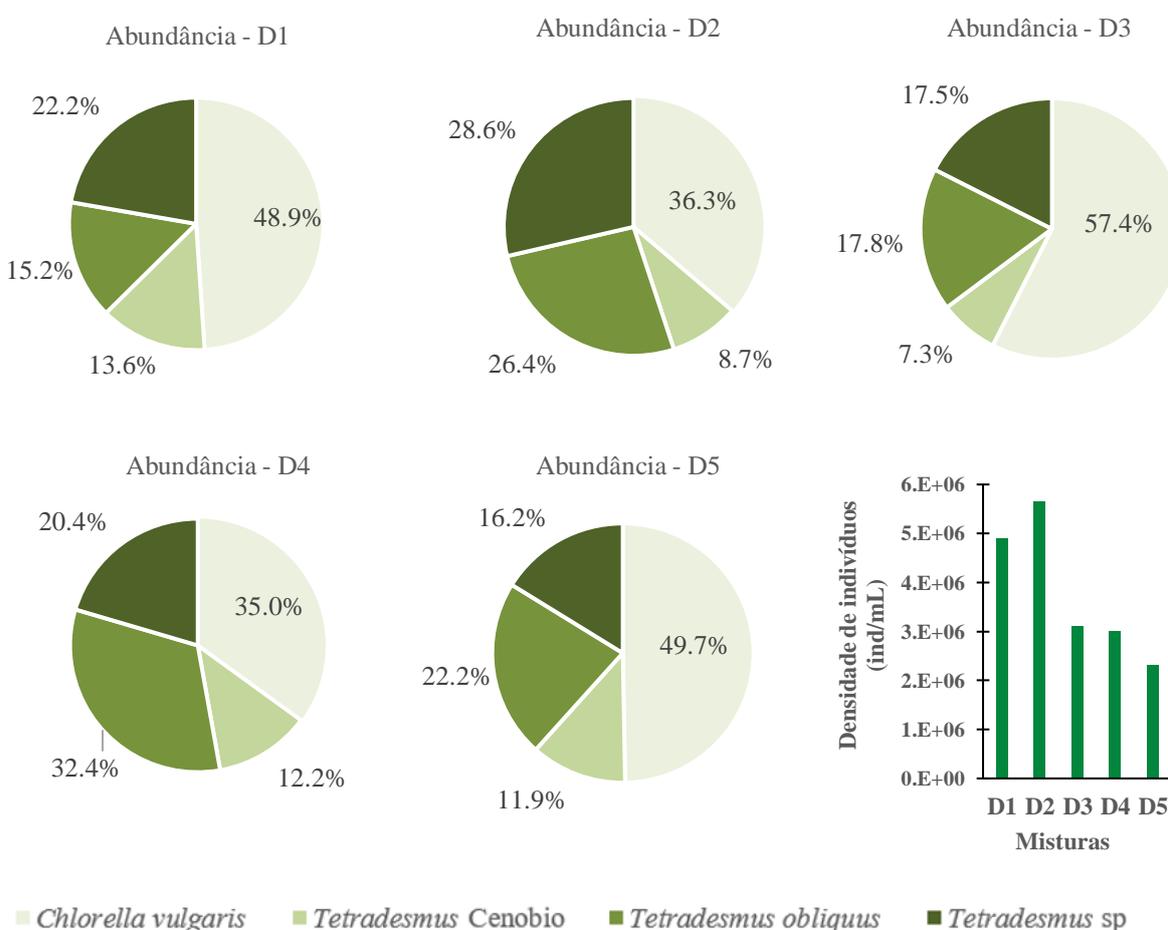


Figura 1 – Espécies microalgais e densidade de indivíduos observadas ao final do experimento para cada tratamento. Fonte: Do autor (2023).

Os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus*, atualmente reconhecida como *Tetrademus* (GUIRY; GUIRY, 2023), são consideráveis espécies produtoras de luteína (SUN et al., 2015). O gênero *Chlorella* é considerado como produtor de alta eficiência de β -caroteno, também sendo capaz de sintetizar luteína e zeaxantina (GENÇ et al., 2020; LIU et al., 2021). Avaliando a espécie *Chlorella zofingiensis* cultivada em meio suplementado com acetato, Minyuk et al. (2020) detectaram a presença de β -caroteno, astaxantina, cantaxantina e violaxantina na biomassa de algas. Pantami et al. (2020) realizando uma varredura abrangente do metaboloma da espécie *Chlorella vulgaris* identificaram a presença de neoxantina, violaxantina, luteína,

astaxantina e β -caroteno, quando cultivadas em meio de cultura Bold Basal. Ao avaliar a biomassa produzida em cultivo mixotrófico de *Scenedesmus* sp., Rajendran et al. (2020) obtiveram a presença de β -caroteno, zeaxantina, violaxantina e luteína.

3.2 Caracterização das condições ambientais e do meio de cultivo

Tabela 1. Características das águas residuárias avaliadas e de suas misturas.

Variáveis		Águas residuárias e delineamentos						
		ED	ECP	D1	D2	D3	D4	D5
Carbono inicial (mg/L)	CI	61,0	1,4	43,0	37,9	27,8	15,5	8,9
	COT	11,4	489,3	31,4	71,8	140,3	207,9	288,1
Carbono final (mg/L)	CI	-	-	10,0	19,3	17,0	16,3	17,7
	COT	-	-	15,8	19,3	17,4	20,7	21,69
NKT inicial (mg/L)		111,6	13,7	69,3	61,5	57,9	44,4	32,8
NKT final (mg/L)		-	-	12,9	21,6	19,6	22,2	19,6
P solúvel (mg/L)	Inicial	3,9	0,2	4,6	1,8	0,98	0,53	0,24
	Final	-	-	2,2	0,43	0,32	0,19	0,08
C/N/P inicial		19:29:1	2.454:69:1	15:15:1	62:35:1	171:59:1	422:84:1	1.237:137:1
Temperatura média (°C)		19,3	19,0	21,9	22,1	21,9	21,8	21,8
pH	Inicial	6,9	5,9	7,45	7,34	7,15	6,96	6,75
	Final	-	-	10,88	10,80	10,87	10,29	10,19

Fonte: Do autor (2023).

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstraram que o ECP possui elevado teor de carbono orgânico em sua composição e possui carência de fósforo e nitrogênio, (relação C/N/P de 2.454:69:1). Já o ED possui maiores concentrações de nitrogênio e fósforo, e pequena concentração de carbono total dissolvido, na qual maior parte está presente na forma inorgânica (relação C/N/P de 19:29:1). De acordo com Liu et al. (2022), a relação de nutrientes ideal para o desenvolvimento das algas é de 100:18:1, assim a que melhor se aproximou da ideal foi a D2.

Quanto às condições ambientais, é apresentado na Figura 2 o comportamento diário de pH, temperatura do ar na parte interna e externa a casa de vegetação, bem como a temperatura do meio de cultivo.

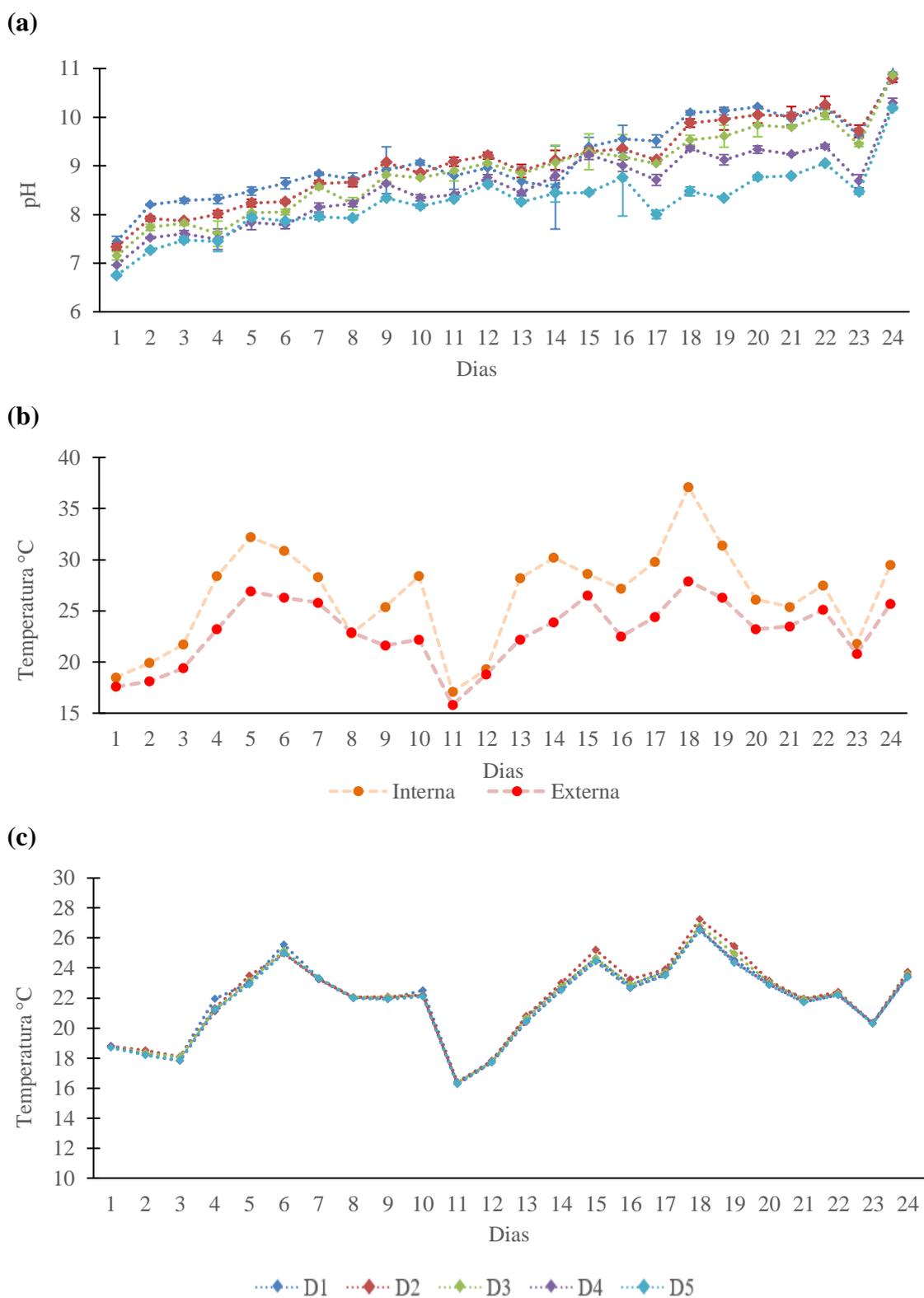


Figura 2 – Condições de pH (a), temperatura ambiente: interno e externo à casa de vegetação (b) e temperatura do meio (c) de cultivo. Fonte: Do autor (2023).

No geral, o pH apresentou comportamento similar para todos os tratamentos avaliados, iniciando em valores próximos à neutralidade e atingindo valores próximos a 10 unidades de pH (Tabela 1). Este aumento do pH está associado ao crescimento algal dos meios de cultivo, uma vez que o desenvolvimento das algas acarreta uma maior atividade fotossintética (SOLIMENO et al., 2017). O pH é um fator com capacidade de influenciar no crescimento algal e na produção de pigmentos pelas células, influenciando na forma dos nutrientes presentes no meio e na sua absorção pelas células (PATEL et al., 2022).

É importante ressaltar que, para cada espécie microalgal, existe um pH ótimo para crescimento e produção de carotenoides (PATEL et al., 2022). Para a espécie *Chlorella vulgaris*, a faixa de pH de 7 a 8 é a ideal para o aumento da concentração de biomassa (CHENG et al., 2022), enquanto para o gênero *Tetrademus* o pH ótimo para aumento de biomassa é o de 8 (SINHA et al., 2022). Em uma microalga da família Chlorophyceae, *Haematococcus lacustris*, uma mudança abrupta para pH ácido acarretou alterações fisiológicas nas células, gerando estresse e propiciando uma maior produção de astaxantina (HAN et al., 2020). Para a microalga *D. salina*, o pH ótimo de 7,5 corroborou com a maior produção de β -caroteno (BEGUM et al., 2016). No presente estudo, o aumento de pH aconteceu de maneira contínua em todos os tratamentos, sem alterações acentuadas. Os valores atingiram a faixa ótima, assegurando o crescimento da biomassa para os gêneros encontrados nos tratamentos (item 3.1), e a superação dos valores ótimos de crescimento, pode indicar um fator contribuinte para uma maior probabilidade de produção de carotenoides. Ressalta-se, também, que a faixa ótima de pH foi alcançada na primeira semana de análise (Figura 2a) e que as misturas D2, D3, D4 e D5 permaneceram mais tempo sob a faixa.

A luz, e sua intensidade, são fatores importantes para o desenvolvimento algal e sua variação interfere na produção dos pigmentos protetivos e pigmentos associados à fotossíntese (PATEL et al., 2022). Ao longo do experimento, observou-se que os valores médios de PAR dentro da casa de vegetação foram 3 vezes menores que em relação à parte externa ($PAR_{\text{externo}} = 843,96 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e $PAR_{\text{interno}} = 278,85 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Baixas intensidades luminosas ($27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) podem influenciar em maiores produções de clorofila pelas células ($66,9 \text{ mg/g}$), já altas intensidades de luz ($546 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) propiciam o acúmulo de astaxantina na biomassa (30 mg/g) (BEGUM et al., 2016). Ressalta-se que o aumento da concentração de β -caroteno nas algas pode ser intensificado com o aumento da disponibilidade de luz, sobretudo sob altas irradiações (BEGUM et al., 2016). Desta forma, a quantidade de radiação incidente sobre as lagoas afeta a disponibilidade de energia para as microalgas. Baixas intensidades

podem limitar o crescimento algal e altas intensidades pode resultar na fotoinibição (ASSEMANY et al., 2014), além disso, auxiliam na densidade de organismos presentes no meio (ASSEMANY et al., 2015).

Outro fator que influencia o desenvolvimento das microalgas e seus mecanismos metabólitos é a temperatura. A temperatura ambiente observada dentro da casa de vegetação foi maior que a mensurada externamente (Figura 2b), variando em relação ao exterior de 0,5 °C a 9,2 °C. No entanto, não foram observadas variações de temperatura do meio de cultura entre os tratamentos, sendo o valor mínimo de 16°C e máximo de 27 °C (Figura 2c). Usualmente, a faixa de temperatura do meio de cultivo ideal para o crescimento algal é de 20 a 30 °C, sendo 30 °C uma temperatura ótima para o crescimento de *Chlorella vulgaris* (REHMAN et al., 2022). Elevadas temperaturas, acima de 25 °C, tendem a favorecer o acúmulo de carotenoides pela biomassa algal (BEGUM et al., 2016). As variações, mínimas ou bruscas, de temperatura durante o crescimento algal podem provocar modificações na síntese de pigmentos, influenciando no seu rendimento, pois atuam diretamente na atividade fisiológica das células algais (PATEL et al., 2022), agindo nas vias de biossíntese, influenciando na produção das enzimas e na composição das cadeias de moléculas (GONG; BASSI, 2016).

Estudos avaliaram o acúmulo de carotenoides sob temperaturas diferentes em espécies distintas de algas. A temperatura ótima para a produção de astaxantina é entre 25 e 30 °C, principalmente para microalgas verdes como a *H. pluvialis* e a *Chlorella zofingiensis* (BEGUM et al., 2016). Em células de *Dunaliella*, quando submetidas à temperatura de 24 a 29 °C, houve o aumento da concentração de α -caroteno, já a proximidade da temperatura de 20 °C gerou o maior conteúdo de luteína em *Chlamydomonas* sp. e o aumento desta temperatura (para 40 °C) resultou na diminuição da luteína (LIU et al., 2021). No entanto, alguns estudos relatam que altas temperaturas favorecem o acúmulo de luteína por maior parte das algas verdes (BENBELKHIR; MEDJEKAL, 2022). A temperatura possui relevante papel na produção de β -caroteno pelas algas (POURKARIMI et al., 2020). A faixa de 20 a 30 °C é considerada ótima para a síntese de β -caroteno em *Dunaliella salina* (BEGUM et al., 2016), que também é uma alga Chlorophyta. A partir da Figura 2c evidencia-se que em 19 dos 24 dias do experimento a faixa de temperatura foi de 20 a 27 °C, estando na faixa ótima para muitos tipos de carotenoides.

3.3 Produção de biomassa

Tabela 2 – Características da produção de biomassa.

Variáveis	Tratamentos				
	D1	D2	D3	D4	D5
SSV inicial (mg/L)	98,75	130,8	176,8	169,2	216,7
SSV final (mg/L)	414,0	413,5	364,0	310,5	283,0
Produtividade SSV (g/m².dia)	2,2 _A	2,0 _{AB}	1,3 _{ABC}	1,0 _{BC}	0,5 _C
Incremento SSV (mg/L)	315,3 _A	282,8 _A	187,2 _B	141,3 _{BC}	66,3 _C
SST inicial (mg/L)	117,9	154,2	218,69	241,7	265,8
SST final (mg/L)	487,0	485,5	450,5	506,0	441,5
Produtividade SST (g/m².dia)	2,4 _A	2,2 _{AB}	1,5 _{ABC}	1,7 _{BC}	1,2 _C
Valor máximo de clorofila-α (mg/L)	2,39 _A	2,25 _A	1,85 _A	2,13 _A	1,06 _B
Produtividade clorofila-α (g/m².dia)	0,05 _A	0,08 _A	0,04 _A	0,05 _A	0,03 _A
Valor final de clorofila-α (mg/L)	1,46	1,40	1,29	1,09	1,06

* Letras iguais na mesma linha representam semelhança estatística pelo teste de Fisher a 5% de significância. Fonte: Do autor (2023).

Conforme a Tabela 2, observou-se que houve aumento da concentração de SSV para todos os tratamentos, sendo a mistura D1 (315,3 mg/L) a que apresentou melhor desempenho. Em termos de aumento de biomassa SSV, e quando comparando estatisticamente pelo teste de Fisher, os tratamentos D1 e D2 foram iguais entre si e diferiram entre os demais. A produtividade de SSV, expressa em g/m².dia, demonstrou diferenças baseadas no tratamento, indicando que o crescimento da biomassa total (em termos de SSV) variou conforme a adequação nutricional das misturas (item 3.1), sendo melhores para as misturas D1, D2 e D3. Os resultados de produção de biomassa, tanto de clorofila quanto SSV, evidenciam que o efeito da composição nutricional afeta diretamente o desenvolvimento dos organismos no meio de cultivo. Além disso, o tratamento D2, que apresentou a relação nutricional mais próxima da ideal (item 3.2), está entre as misturas com as melhores produtividades.

A disponibilidade de nutrientes no meio de cultivo possui correlação positiva com o desempenho da produtividade de biomassa e a operação em concentrações ideais leva a uma maior produção de biomassa, até em diferentes estações do ano (MORILLAS-ESPAÑA et al., 2021). A escassez de nitrogênio no meio limita o crescimento da biomassa (YAAKOB et al., 2021), o que corrobora com o presente estudo (item 3.2). Dessa forma, o decaimento da produtividade de SSV (Tabela 2) nos delineamentos está associado a concentrações menores de nutrientes limitantes, sobretudo o nitrogênio. Diferentes águas residuárias apresentam concentrações de nutrientes distintas para o desempenho das algas. Em sua revisão, López-

Sánchez et al. (2022) estudaram as produtividades de diferentes espécies de algas em águas residuárias com distintos conteúdos nutricionais. Para águas residuárias de suínos, com elevadas concentrações de nutrientes, os autores encontraram máximas de produção de *Chlorella vulgaris* de 3,96 g/L e valores de 1,25 g/L em consórcios entre *Chlorella* e *Scenedesmus*. Quando o meio de cultivo foi efluente de bovinocultura digerido anaerobicamente, os autores encontraram produtividade de microalgas igual a 3,70 g/L para espécie *Scenedesmus obliquus*. Estes valores indicam melhores produtividades de biomassa quando submetidas a concentrações nutricionais ideais de crescimento. Ressalta-se que para a produtividade de biomassa total a diferença entre os tratamentos foi mais preponderante, diferentemente da biomassa primária (clorofila-*a*), indicando que outros organismos presentes no meio são mais sensíveis a essa variação nutricional.

3.4 Produção de carotenoides

3.4.1 Caracterização quantitativa dos carotenoides

A partir da análise de carotenoides totais, obteve-se o comportamento destes pigmentos ao longo da batelada experimental (Figura 3a) e seu acúmulo ao final (Figura 3b). Os resultados de produtividade diária de carotenoides totais são apresentados na Figura 3c.

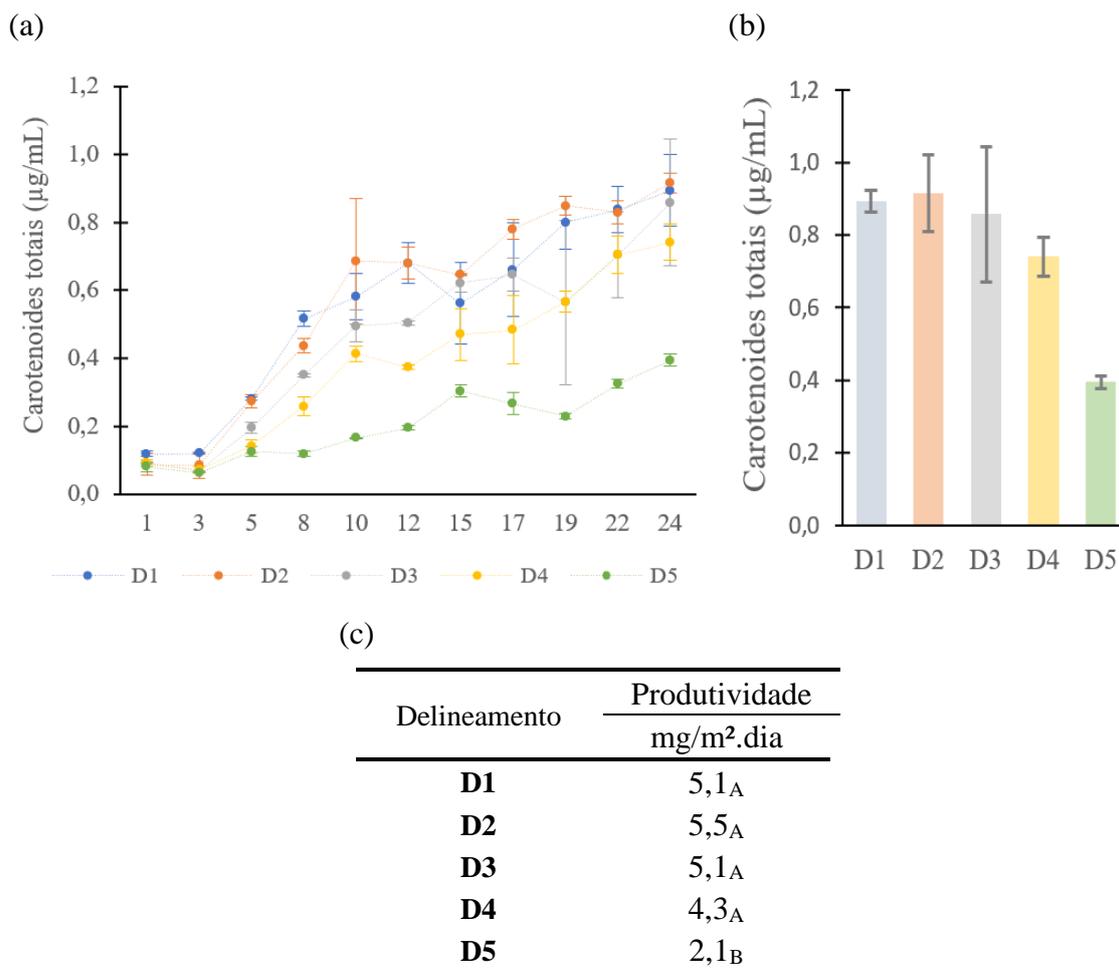


Figura 3 – Concentração de carotenoides totais ao longo do experimento (a), concentração, em $\mu\text{g/mL}$, ao final do experimento (b) e produtividade de carotenoides totais (c). Linhas verticais representam o desvio padrão, $n = 2$. Fonte: Do autor (2023).

Em relação à concentração final de carotenoides totais, D5 foi o único tratamento que diferiu estatisticamente dos demais pelo teste de Fisher ($p\text{-valor} > 0,05$). Os resultados evidenciam que, a partir do oitavo dia de experimento, o tratamento D5 apresentou os menores teores de nitrogênio e fósforo ao longo de todo o experimento (Material Suplementar, Figura S1). Já o tratamento D2, com melhor relação nutricional (como mostrado no item 3.2), apresentou os maiores valores de concentração de carotenoides totais ($0,92 \mu\text{g/mL}$), no entanto estatisticamente igual aos tratamentos D1, D3 e D4.

3.4.2 Caracterização qualitativa dos carotenoides

A partir da análise qualitativa da biomassa de microalgas, observou-se que as formas predominantes de carotenoides encontrados foram luteína e β -caroteno. Na Tabela 3 estão apresentadas as concentrações de cada composto para cada tratamento, (em μg de carotenoide/

g de biomassa seca produzida) e a produtividade destes compostos (em mg/m².dia). Ressalta-se que a produtividade dos compostos foi feita a partir da produtividade de SST (Tabela 2).

Tabela 3 – Quantificação de luteína e β -caroteno por delineamento de mistura.

Delineamento	$\mu\text{g/g}$		Produtividade (mg/m ² .dia)	
	Luteína	β -caroteno	Luteína	β -caroteno
D1	52,60 _A	0,51 _{BC}	0,13 _A	0,001 _B
D2	46,17 _A	1,21 _A	0,10 _{AB}	0,003 _A
D3	34,26 _{AB}	0,85 _{AB}	0,05 _{BC}	0,001 _B
D4	14,59 _{BC}	0,70 _{ABC}	0,03 _C	0,001 _B
D5	6,03 _C	0,19 _C	0,01 _C	0,000 _B

* letras iguais na mesma coluna indicam, pelo teste de Fisher, semelhança significativa (p-valor > 0,05). Fonte: Do autor (2023).

3.4.3 Efeito dos nutrientes na produção dos carotenoides

Todos os tratamentos avaliados estiveram sob efeito de condições semelhantes de pH, temperatura e radiação, apresentando comportamento similares para cada um dos fatores ao longo da batelada experimental (Figura 2). Além disso, as espécies microalgais que se desenvolveram foram as mesmas, com pequenas diferenças entre a densidade de indivíduos (Figura 1). Com isso, a concentração nutricional se demonstra como principal fator para a produção dos pigmentos e a diferenciação entre os tratamentos.

O aparato bioquímico das algas, e a consequente produção de carotenoides, é alterada e estimulada sob a presença de diferentes concentrações de nutrientes orgânicos e inorgânicos (KALRA; GAUR; GOEL, 2021). Estudos indicam que relações C/N baixas, sobretudo com pouco carbono inorgânico, geram insuficiência deste nutriente para o desenvolvimento do consócio de algas e bactérias, além de influenciar nas suas atividades metabólicas fotoautotróficas, acarretando baixa produtividade de biomassa (DANG et al., 2022). Gao et al. (2023) realizaram uma investigação do efeito de diferentes proporções nas relações de N/P em misturas de águas residuárias para o cultivo de *Scenedesmus obliquus*, e concluíram que uma melhor adequabilidade (N/P = 18) possui efeito positivo na biomassa algal e em seus processos metabólicos.

Como forma de relacionar os resultados de acúmulo de carotenoides com a disponibilidade de nutrientes entre as diferentes misturas, modelos de regressão linear simples foram ajustados (Figura 4). Os modelos e equações obtidos, assim como seus coeficientes, possuem significância estatística (p-valor < 0,05). O coeficiente de determinação das regressões

auxilia na confirmação da significância, indicando que os modelos possuem capacidade de explicação de até 60% (mínimo obtido para a relação Carotenoides totais x N/P) da produtividade de carotenoides (totais e específicos) pela concentração inicial de nutrientes.

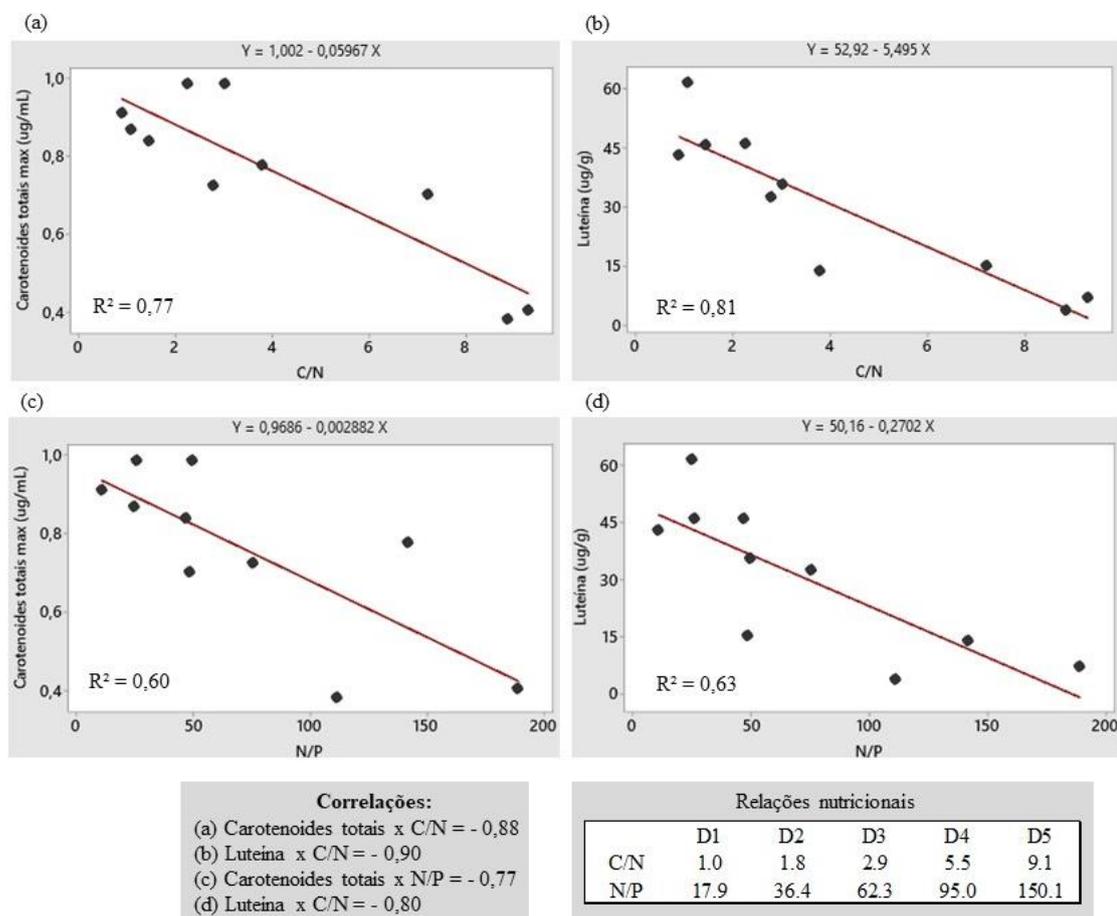


Figura 4 – Regressões lineares e correlações, (a) carotenoides totais x C/N, (b) Luteína x C/N, (c) Carotenoides totais x N/P e (d) Luteína x N/P. Fonte: Do autor (2023).

A espécie microalgal e o solvente utilizado para extração e o método de detecção dos carotenoides totais influenciam diretamente na concentração obtida experimentalmente (PATEL et al., 2022). Assim como no presente estudo, Singh et al. (2020) utilizaram metanol como solvente para determinar carotenoides totais no cultivo puro da espécie microalgal *Tetrademus obliquus* e obtiveram 7,91 µg/mL. Vale ressaltar que o foco dos autores foi a otimização dos parâmetros físicos de crescimento e a eficácia da entrada de energia externa no sistema para a produção de carotenoides totais e que o estudo foi desenvolvido em meio de cultivo puro. Cardoso et al. (2020) utilizaram como meio de cultivo água residuária da criação de Tilápia (*Oreochomis niloticus*), com adequações de pH e presença de metais. Os autores observaram o acúmulo de 9,68 µg/mL de carotenoides totais determinados por meio da acetona

como solvente. Contudo, tanto nos estudos realizados por Singh et al. (2020) quanto Cardoso et al. (2020), houve uma adequação dos fatores de cultivo das microalgas, propiciando a produção de carotenoides. Além disso, as espécies foram cultivadas isoladas e, portanto, não houve competição, refletindo no melhor desenvolvimento da biomassa.

A produtividade de carotenoides totais está associada à produtividade de biomassa dos reatores experimentais. Como observado no trabalho de Singh et al. (2020), a maior concentração de biomassa de algas produzida pelo delineamento influencia na maior concentração de pigmentos, entre eles os carotenoides totais. A produtividade máxima de carotenoides encontrada para os delineamentos foi de 5,5 mg/m².dia para D2, e a mínima de 2,1 mg/m².dia para D5 (Figura 3c), esta última estatisticamente diferente dos demais tratamentos. Em seu cultivo de *Spirulina* sp., e usando água residuária de criação de peixes como meio, Cardoso et al. (2020) estabeleceram uma produtividade de 38,2 mg/m².dia de carotenoides totais. Nwoba et al. (2021) avaliaram, em lagoas de alta taxa, a influência de diferentes feixes de luz e condições nutricionais na produtividade de carotenoides totais por *Dunaliella salina*, os autores destacaram a luz vermelha como a que melhor induziu a produtividade de biomassa e consequente carotenoides, alcançando o valor de 12,8 mg/m².dia. Os resultados do presente trabalho (item 3.4.1) são menores que os encontrados na literatura, justificados principalmente pela competição entre espécies algais e um menor controle sobre o crescimento de biomassa.

O acúmulo de luteína variou de 52,6 µg/g a 6,03 µg/g, decaindo com o aumento de ECP no meio. Este carotenoide apresentou concentrações maiores que o β-caroteno (Tabela 3), uma vez que a luteína é produzida em condições de maior estresse (SCHÜLER et al., 2020). Como apresentado na seção 3.2, os nutrientes limitantes possuem papel importante na síntese de carotenoides (BENAVENTE-VALDÉS et al., 2016). Assim, o aumento do ECP e consequente redução da concentração de nitrogênio e fósforo podem ter levado a uma redução na produção e acúmulo de luteína pela biomassa de microalgas. Em uma análise da literatura, os valores de luteína encontrados são maiores que os alcançados no presente estudo, atingindo valores de 3,20 mg/g em produção comercial de *Chlorella vulgaris* e 5,71 mg/g em produção de larga escala de mono-cultivo de *Scenedesmus almeriensis* (PATEL et al., 2022). Enquanto avaliava o tratamento das águas residuárias de matadouros, que possui elevadas cargas orgânicas, assim como o ECP, Rodrigues et al. (2014) atingiram 21,92 µg/g de luteína na biomassa seca de microalga a partir do mono-cultivo de *Phormidium autumnale*. Valor este dentro da faixa encontrada no presente estudo e próximo aos delineamentos com as melhores relações nutricionais (D2, D3 e D4). As produtividades de luteína seguiram a relação das concentrações

finais obtidas, destacando os delineamentos D1 e D2 com os maiores valores (0,13 e 0,10 mg/m².dia, respectivamente), estatisticamente iguais.

O aumento da relação C/N, e a consequente redução do teor de nitrogênio no meio, apresentou efeito negativo nas concentrações máximas de carotenoides totais e luteína. Nota-se assim modelos com correlação inversa, próxima de 1 (negativamente). Como observado nas Figuras 4c e 4d, o aumento das relações N/P (e consequente diminuição da concentração de fósforo no meio) tende a reduzir a concentração produzida de carotenoides totais e luteína. Os resultados indicam que o aumento excessivo de carbono, quando comparado ao de nitrogênio pode levar à redução da produção e acúmulo de carotenoides. A forma de carbono disponibilizada no meio pode interferir na realização da fotossíntese e afetar a produção de pigmentos, sendo o carbono inorgânico importante para a produção destes metabólitos (CARDOSO et al., 2020). Ressalta-se que, como apresentado na Tabela 1, as concentrações de carbono inorgânico para as misturas com ECP foram menores que as de carbono orgânico. O carbono metabolizado é capaz de fornecer para as células algais energia na forma de ATP e NADPH (SUN et al., 2020). Como o aumento do carbono reduziu a concentração dos demais nutrientes no meio e a concentração de carotenoides totais e luteína nas células, o carbono fixado pelas células de microalgas pode não ter sido usado para a biossíntese de carotenoides, uma vez que esta síntese também depende da luz e radiação disponível (ABURAI; ONDA; FUJII, 2022).

O nitrogênio é uma molécula importante para o desenvolvimento algal, que quando em baixas concentrações limita e prejudica o meio de cultivo, podendo causar a lise das células devido à quebra de moléculas de clorofila (KHOO et al., 2019). Os resultados (Figura 4) evidenciaram que a redução das concentrações de nitrogênio no meio levou à redução do acúmulo de carotenoides. Liu et al. (2021) avaliaram que um maior nível de nitrogênio amoniacal no meio pode levar a uma maior produção de carotenoides totais pelas células algais. Já um maior acúmulo de luteína em *Scenedesmus* sp. foi observado em condições de nitrogênio suficiente e forte luz (PŘIBYL et al., 2016). Em consonância com o presente estudo, o suprimento de fontes de nitrogênio orgânicas e inorgânicas tendem a aumentar a biossíntese de carotenoides (COULOMBIER et al., 2020), principalmente quando em condições ótimas associadas ao teor de carbono do meio (LIU et al., 2021).

Além do nitrogênio, o aumento de fósforo no meio também proporcionou um aumento nas concentrações de carotenoides (Figuras 4c e 4d). Modificações nas concentrações de fósforo no meio podem gerar alterações no aparato fotossintético e na produção de pigmentos

(BENAVENTE-VALDÉS et al., 2016), atuando como nutriente importante para o desenvolvimento das algas (REHMAN et al., 2022). Moussa et al. (2017) observaram acúmulos, de 1,2 a 2,3 vezes a concentração inicial, no conteúdo de carotenoides. Assim como no presente estudo, os autores destacaram uma correlação positiva entre o teor de carotenoides e o aumento de fósforo no meio, indicando a importância deste elemento no transporte de energia metabólica. Também em consonância com este estudo, Martins et al. (2011) estabeleceram correlações positivas entre o aumento de carotenoides nas células de microalgas e o incremento de fósforo no meio, ressaltando a atuação dos compostos de fósforo nas vias metabólicas algais.

O β -caroteno é um composto economicamente relevante com diversas aplicações. Dessa maneira, a melhor relação nutricional no tratamento D2 e, conseqüentemente, maior produção de biomassa, proporcionou o maior acúmulo de β -caroteno (1,21 $\mu\text{g/g}$) no interior das células de microalgas. A suplementação de carbono via mistura com ECP em proporções intermediárias (de 18,75% a 56,25%), associada às melhores proporções dos nutrientes limitantes (nitrogênio e fósforo), foi eficaz do ponto de vista de acúmulo do composto. Desta forma, as misturas D2, D3 e D4 apresentaram valores estatisticamente semelhantes de produção de β -caroteno, sendo maiores que o controle (D1). Já para a mistura D5 a concentração diminuiu, este fato pode estar relacionado ao baixo teor de carbono inorgânico inicial no meio de cultivo, advindo do incremento de ECP, uma vez que as concentrações iniciais da forma inorgânica de carbono induz a síntese de pigmentos (LI et al., 2019b). Ressalta-se que não houve significância estatística para as regressões e correlações de N/P e C/N com as concentrações produzidas de β -caroteno (assim, não apresentados na Figura 4).

Singh et al. (2020) alcançaram valores de β -caroteno entre 620 $\mu\text{g/g}$ a 80 $\mu\text{g/g}$ em cultivo ideal e puro da microalga *Tetrademus obliquus*. A conclusão dos autores foi que a fonte disponível de carbono pode ser um fator prejudicial para a produção e acúmulo de β -caroteno, dado que a suplementação de carbono orgânico no meio alterou o conteúdo de β -caroteno na biomassa, variando de 0,62 mg/g para 0,08 mg/g. Teng et al. (2022), cultivando *Chlorella sorokiniana* em meio BG11 modificado, avaliaram o crescimento microalgal e produtividade de produtos de alto valor em meios de cultivo com diferentes concentrações de suplementação nutricional. Os autores alcançaram valores de 4,37 mg/g a 7,5 mg/g de β -caroteno, observando que a melhora do controle nutricional aumentou a produção desse composto pelas algas, assim como no presente estudo. Os valores estabelecidos nessa pesquisa foram menores que os da literatura, o que pode ser associado às mudanças na temperatura ao longo do experimento (item

3.2). Este fator pode ter surtido efeito negativo na produção e acúmulo deste composto, uma vez que menores temperaturas reduzem a biossíntese de β -caroteno pelas células algais (SCHÜLER et al., 2020). As produtividades diárias de β -caroteno foram baixas, resultando na baixa concentração final do produto.

4 – CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

As algas são seres com grande capacidade de adaptação ao ambiente em que estão inseridas (REF). São capazes de sobreviver em diversas condições (REF). Quando submetidas a ambientes estressantes, como por exemplo variações nas intensidades de luz, pH e restrições nutricionais, elas são capazes de produzir e acumular maiores quantidades de carotenoides em seu interior (REF). Desta maneira, o presente estudo buscou o aumento da produção e acúmulo de carotenoides pelas microalgas, uma vez que, maiores proporções de ECP em comparação com o ED levaria a condições de estresse no meio de cultivo, mais especificamente a carência de nitrogênio.

Na contramão da hipótese levantada, as condições de acréscimo de ECP diminuíram o acúmulo de carotenoides. Esta diminuição pode estar associada ao teor de nutrientes no meio de cultivo. Liu et al. (2021) observaram que a adequação nutricional é importante para o desenvolvimento algal e a produção dos carotenoides, demonstrando que a produção dos pigmentos pelas algas, mesmo que propiciadas em eventos de estresse, necessitam da presença de nutrientes no meio de cultivo. Schüller et al. (2020) concluíram que a reposição dos compostos nitrogenados auxilia na indução de produção de carotenoides. Dessa maneira, o aumento de ECP no meio diminui a concentração de nitrogênio, influenciando negativamente na produção de biomassa de algas (BENAVENTE-VALDÉS et al., 2016) e conseqüentemente na produção total de carotenoides.

Uma estratégia para superar a limitação do aumento de ECP no meio seria o cultivo em duas etapas, esta tipologia de cultivo consiste na ambientação das células algais em um meio propício ao seu crescimento, após o desenvolvimento as algas são levadas a condições de estresse que, geralmente, influenciam positivamente no acúmulo de bioprodutos (ZHOU et al., 2012). Kim et al. (2020) utilizaram a estratégia do cultivo em dois estágios para verificar o aumento da produtividade de pigmentos em algas, e concluíram que esta estratégia pode elevar em até 2,7 vezes a produtividade destes compostos.

Dados os resultados obtidos no presente estudo, a utilização de ECP como meio de cultivo algal e seu subseqüente aproveitamento para produção de carotenoides ainda requer

estudos mais aprofundados. Estudos futuros devem avaliar melhores proporções de mistura, buscando proporções nutricionais mais balanceadas do ponto de vista nutricional. Para tanto, pode-se avaliar, por exemplo, a utilização de efluentes de diferentes fontes, assim como diferentes estratégias de cultivo algal, analisando seus efeitos na produção e acúmulo de carotenoides.

5 – CONCLUSÃO

Os carotenoides são subprodutos valiosos que conciliam o tratamento de efluentes ao potencial econômico, viabilizando a sustentabilidade do processo. Sob as condições do presente trabalho, sem o controle de espécies algais, pH, luminosidade e temperatura e com a mistura de efluentes foi possível obter carotenoides totais, 50 µg/g de luteína e 1,21 µg/g de β-caroteno. O tratamento D2 com aproximadamente 18% de ECP apresentou a melhor relação nutricional e, conseqüentemente, boas produtividades de biomassa e de carotenoides. Além disso, nessa mesma mistura foi observado o melhor desempenho de produção de β-caroteno e a segunda maior produção de luteína. Ressalta-se que o incremento de ECP no meio influenciou negativamente o acúmulo de carotenoides, pois seu acréscimo reduziu o teor de nutrientes necessários para o crescimento algal e síntese de pigmentos. Estudos futuros que avaliem o cultivo em duas etapas, para um aumento das concentrações dos subprodutos podem apresentar resultados mais vantajosos. Ainda assim, o presente trabalho representa um esforço direcionado ao desenvolvimento sustentável da indústria moveleira brasileira. O estudo de alternativas de reaproveitamento para os resíduos gerados no processo é de extrema relevância, e os resultados apresentados indicam um potencial a ser explorado.

6 – AGRADECIMENTOS

Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG (grant number APQ-00114/2021).

7 - REFERENCIAS

- ABDELFAH, A. et al. Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 13, p. 100205, jan. 2023.
- ABURAI, N.; ONDA, T.; FUJII, K. Carotenogenesis and carotenoid esterification in biofilms of the microalga *Coelastrella rubescens* KGU-Y002 in the aerial phase. **Algal Research**, v. 67, p. 102847, set. 2022.
- ANTUNES, A. et al. The anti-proliferative effect of β -carotene against a triple-negative breast cancer cell line is cancer cell-specific and JNK-dependent. **PharmaNutrition**, v. 22, p. 100320, dez. 2022.
- APHA, A. P. H. A. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22nd. ed. Washington, D.C., USA: [s.n.].
- ARASHIRO, L. T. et al. Life cycle assessment of microalgae systems for wastewater treatment and bioproducts recovery: Natural pigments, biofertilizer and biogas. **Science of The Total Environment**, v. 847, p. 157615, nov. 2022.
- ASSEMANY, P. P. et al. Effect of solar radiation on the lipid characterization of biomass cultivated in high-rate algal ponds using domestic sewage. **Environmental Technology**, v. 35, n. 18, p. 2296–2305, 17 set. 2014.
- ASSEMANY, P. P. et al. Algae/bacteria consortium in high rate ponds: Influence of solar radiation on the phytoplankton community. **Ecological Engineering**, v. 77, p. 154–162, abr. 2015.
- ASSIS, L. R. et al. Innovative hybrid system for wastewater treatment: High-rate algal ponds for effluent treatment and biofilm reactor for biomass production and harvesting. **Journal of Environmental Management**, v. 274, p. 111183, nov. 2020.
- BEGUM, H. et al. Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 13, p. 2209–2222, 2 out. 2016.
- BENAVENTE-VALDÉS, J. R. et al. Strategies to enhance the production of photosynthetic pigments and lipids in chlorophyceae species. **Biotechnology Reports**, v. 10, p. 117–125, jun. 2016.
- BENBELKHIR, F. Z.; MEDJEKAL, S. Microalgal carotenoids: A promising alternative to synthetic dyes. **Algal Research**, v. 66, p. 102823, jul. 2022.
- BOLONHESI, I. B. T. M. et al. Formaldehyde biodegradation in an ASBR-SBR system: an effective treatment solution for furniture industry painting booth wastewater. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 19, n. 4, p. 3075–3086, 8 abr. 2022.
- BUSTAMAM, M. S. A. et al. Complementary Analytical Platforms of NMR Spectroscopy and LCMS Analysis in the Metabolite Profiling of *Isochrysis galbana*. **Marine Drugs**, v. 19, n. 3, p. 139, 2 mar. 2021.

- CAETANO, P. A. et al. Microalgae-based polysaccharides: Insights on production, applications, analysis, and future challenges. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 45, p. 102491, out. 2022.
- CARDOSO, L. G. et al. Spirulina sp. LEB 18 cultivation in outdoor pilot scale using aquaculture wastewater: High biomass, carotenoid, lipid and carbohydrate production. **Aquaculture**, v. 525, p. 735272, ago. 2020.
- CEZARE-GOMES, E. A. et al. Potential of Microalgae Carotenoids for Industrial Application. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 188, n. 3, p. 602–634, 6 jul. 2019.
- CHAN, M.-C. et al. Characterization, extraction and purification of lutein produced by an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Biochemical Engineering Journal**, v. 78, p. 24–31, set. 2013.
- CHENG, C.-L. et al. Effect of pH on biomass production and carbohydrate accumulation of *Chlorella vulgaris* JSC-6 under autotrophic, mixotrophic, and photoheterotrophic cultivation. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 127021, maio 2022.
- CORONEL, J. et al. The conversion of β -carotene to vitamin A in adipocytes drives the anti-obesogenic effects of β -carotene in mice. **Molecular Metabolism**, v. 66, p. 101640, dez. 2022.
- COULOMBIER, N. et al. Effects of Nitrogen Availability on the Antioxidant Activity and Carotenoid Content of the Microalgae *Nephroselmis* sp. **Marine Drugs**, v. 18, n. 9, p. 453, 29 ago. 2020.
- DANG, B.-T. et al. Influence of C/N ratios on treatment performance and biomass production during co-culture of microalgae and activated sludge. **Science of The Total Environment**, v. 837, p. 155832, set. 2022.
- GAO, L. et al. Effects of different nitrogen/phosphorus ratios on the growth and metabolism of microalgae *Scenedesmus obliquus* cultured in the mixed wastewater from primary settling tank and sludge thickener. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 170, p. 824–833, fev. 2023.
- GENÇ, Y. et al. Oxidative Stress and Marine Carotenoids: Application by Using Nanoformulations. **Marine Drugs**, v. 18, n. 8, p. 423, 13 ago. 2020.
- GONG, M.; BASSI, A. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 8, p. 1396–1412, dez. 2016.
- GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M. **AlgaeBase**. Disponível em: <<https://www.algaebase.org>>. Acesso em: 17 jan. 2023.
- HAN, S.-I. et al. Astaxanthin biosynthesis promotion with pH shock in the green microalga, *Haematococcus lacustris*. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123725, out. 2020.
- KALRA, R.; GAUR, S.; GOEL, M. Microalgae bioremediation: A perspective towards wastewater treatment along with industrial carotenoids production. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101794, abr. 2021.

KHOO, K. S. et al. Recent advances in biorefinery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. **Bioresource Technology**, v. 288, p. 121606, set. 2019.

KIM, U. et al. Two-stage cultivation strategy for the improvement of pigment productivity from high-density heterotrophic algal cultures. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122840, abr. 2020.

KOMAREK, J.; FOTT, B. **Das Phytoplankton des Süßwasser Systematik und Biologie Teil 7,1**. [s.l.] Die Binnengewässer, Begründet von August Thienemann, Stuttgart. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung, 1983.

LI, K. et al. Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121934, nov. 2019a.

LI, Q. et al. Gamma-aminobutyric acid facilitates the simultaneous production of biomass, astaxanthin and lipids in *Haematococcus pluvialis* under salinity and high-light stress conditions. **Bioresource Technology**, v. 320, p. 124418, jan. 2021.

LI, Y. et al. Storage carbon metabolism of *Isochrysis zhangjiangensis* under different light intensities and its application for co-production of fucoxanthin and stearidonic acid. **Bioresource Technology**, v. 282, p. 94–102, jun. 2019b.

LIU, C. et al. Carotenoids from fungi and microalgae: A review on their recent production, extraction, and developments. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125398, out. 2021.

LIU, R. et al. Recovery of value-added products by mining microalgae. **Journal of Environmental Management**, v. 307, p. 114512, abr. 2022.

LÓPEZ-SÁNCHEZ, A. et al. Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114612, abr. 2022.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1532–1542, dez. 2013.

MARTINS, A. P. et al. Effects of nitrate and phosphate availabilities on growth, photosynthesis and pigment and protein contents in colour strains of *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) J.V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 2, p. 340–348, abr. 2011.

MINYUK, G.; SIDOROV, R.; SOLOVCHENKO, A. Effect of nitrogen source on the growth, lipid, and valuable carotenoid production in the green microalga *Chromochloris zofingiensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 2, p. 923–935, 4 abr. 2020.

MORILLAS-ESPAÑA, A. et al. Year-long evaluation of microalgae production in wastewater using pilot-scale raceway photobioreactors: Assessment of biomass productivity and nutrient recovery capacity. **Algal Research**, v. 60, p. 102500, dez. 2021.

- MOUSSA, I. D.-B. et al. Nitrogen or phosphorus repletion strategies for enhancing lipid or carotenoid production from *Tetraselmis marina*. **Bioresource Technology**, v. 238, p. 325–332, ago. 2017.
- NEN, N. N. (NEN 6520). **Dutch standard on the determination of chlorophyll a by the ethanol method.** , 1981.
- NUSCH, E. A. Comparison of Different Methods for Chlorophyll and Phaeopigment Determination. **Archiv fur Hydrobiologie**, v. 14, p. 4–36, 1980.
- NWOBA, E. G. et al. Monochromatic light filters to enhance biomass and carotenoid productivities of *Dunaliella salina* in raceway ponds. **Bioresource Technology**, v. 340, p. 125689, nov. 2021.
- PANCHA, I. et al. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. **Bioresource Technology**, v. 156, p. 146–154, mar. 2014.
- PANTAMI, H. A. et al. Comprehensive GCMS and LC-MS/MS Metabolite Profiling of *Chlorella vulgaris*. **Marine Drugs**, v. 18, n. 7, p. 367, 17 jul. 2020.
- PARRA, O.; RIVERA, P.; ORELLANA, M. V. **Influences the UV radiations in the primary productivity View project Biogeochemical and physical characterization of Arctic sea ice at the end of its melt season View project.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/316784610>>.
- PATEL, A. K. et al. Algae as an emerging source of bioactive pigments. **Bioresource Technology**, v. 351, p. 126910, maio 2022.
- PORRA, R. J. A simple method for extracting chlorophylls from the recalcitrant alga, *Nannochloris atomus*, without formation of spectroscopically-different magnesium-rhodochlorin derivatives. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1019, n. 2, p. 137–141, ago. 1990.
- POURKARIMI, S. et al. Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, p. 101771, out. 2020.
- PŘIBYL, P. et al. The role of light and nitrogen in growth and carotenoid accumulation in *Scenedesmus* sp. **Algal Research**, v. 16, p. 69–75, jun. 2016.
- RAJENDRAN, L.; NAGARAJAN, N. G.; KARUPPAN, M. Enhanced biomass and lutein production by mixotrophic cultivation of *Scenedesmus* sp. using crude glycerol in an airlift photobioreactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 161, p. 107684, set. 2020.
- REHMAN, M. et al. Impact of cultivation conditions on microalgae biomass productivity and lipid content. **Materials Today: Proceedings**, v. 56, p. 282–290, 2022.
- RODRIGUES, D. B. et al. Production of carotenoids from microalgae cultivated using agroindustrial wastes. **Food Research International**, v. 65, p. 144–148, nov. 2014.

- SCHÜLER, L. M. et al. Improved production of lutein and β -carotene by thermal and light intensity upshifts in the marine microalga *Tetraselmis* sp. CTP4. **Algal Research**, v. 45, p. 101732, jan. 2020.
- SINGH, N. et al. Microalgae based biorefinery: Assessment of wild fresh water microalgal isolate for simultaneous biodiesel and β -carotene production. **Bioresource Technology Reports**, v. 11, p. 100440, set. 2020.
- SINHA, A. et al. Process engineering strategy for large scale outdoor cultivation of *Tetrademus obliquus* CT02 coupled with pH guided CO₂ feeding. **Journal of Environmental Management**, v. 318, p. 115539, set. 2022.
- SOLIMENO, A. et al. Integral microalgae-bacteria model (BIO_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. **Science of The Total Environment**, v. 601–602, p. 646–657, dez. 2017.
- SUN, H. et al. A novel fed-batch strategy enhances lipid and astaxanthin productivity without compromising biomass of *Chromochloris zofingiensis*. **Bioresource Technology**, v. 308, p. 123306, jul. 2020.
- SUN, Z. et al. Microalgae as a Source of Lutein: Chemistry, Biosynthesis, and Carotenogenesis. Em: [s.l: s.n.]. p. 37–58.
- TENG, C.-S. et al. Towards high-level protein, beta-carotene, and lutein production from *Chlorella sorokiniana* using aminobutyric acid and pseudo seawater. **Biochemical Engineering Journal**, v. 184, p. 108473, jun. 2022.
- UTERMOHL, H. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 9, p. 1–38, 1958.
- VIANA, C. E. et al. Lutein-loaded nanoparticles reverse oxidative stress, apoptosis, and autism spectrum disorder-like behaviors induced by prenatal valproic acid exposure in female rats. **NeuroToxicology**, v. 94, p. 223–234, jan. 2023.
- WALCHUK, C. et al. Lutein and docosahexaenoic acid enriched egg consumption improves retina function in healthy Caucasian older adults. **Journal of Functional Foods**, v. 89, p. 104913, fev. 2022.
- WHITTON, R. et al. Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment. **Environmental Technology Reviews**, v. 4, n. 1, p. 133–148, 1 jan. 2015.
- XIANG, H. et al. Fabrication of alkali lignin-based emulsion electrospun nanofibers for the nanoencapsulation of beta-carotene and the enhanced antioxidant property. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 218, p. 739–750, out. 2022.
- YAAKOB, M. A. et al. Influence of Nitrogen and Phosphorus on Microalgal Growth, Biomass, Lipid, and Fatty Acid Production: An Overview. **Cells**, v. 10, n. 2, p. 393, 14 fev. 2021.

ZHOU, W. et al. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 448–455, abr. 2012.

8 - MATERIAL SUPLEMENTAR

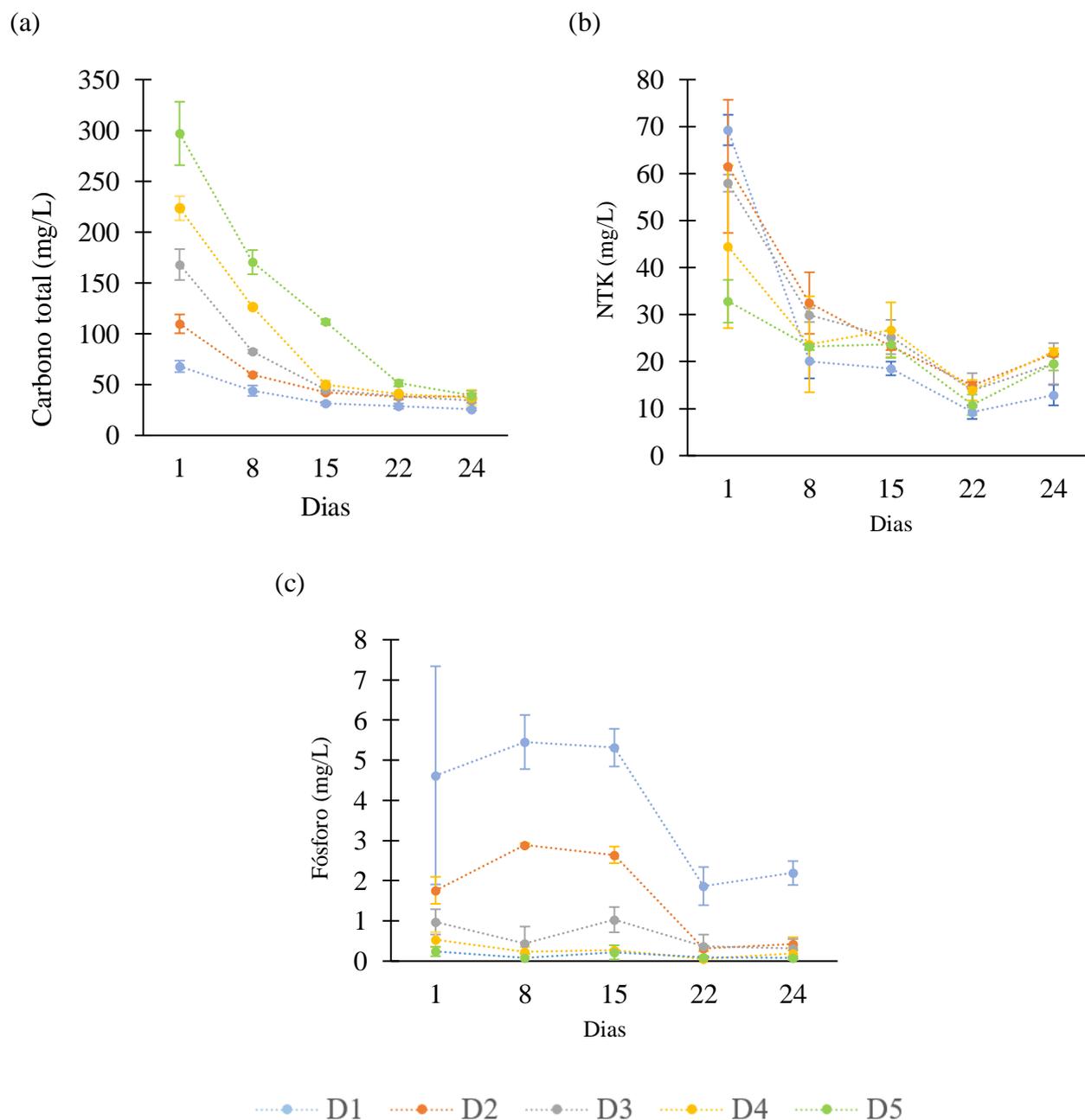


Figura S1 – Comportamento dos nutrientes ao longo da batelada experimental, (a) Carbono total, (b) NKT e (c) fósforo. Barras verticais representam o desvio padrão (n=2). Fonte: Do autor (2023).

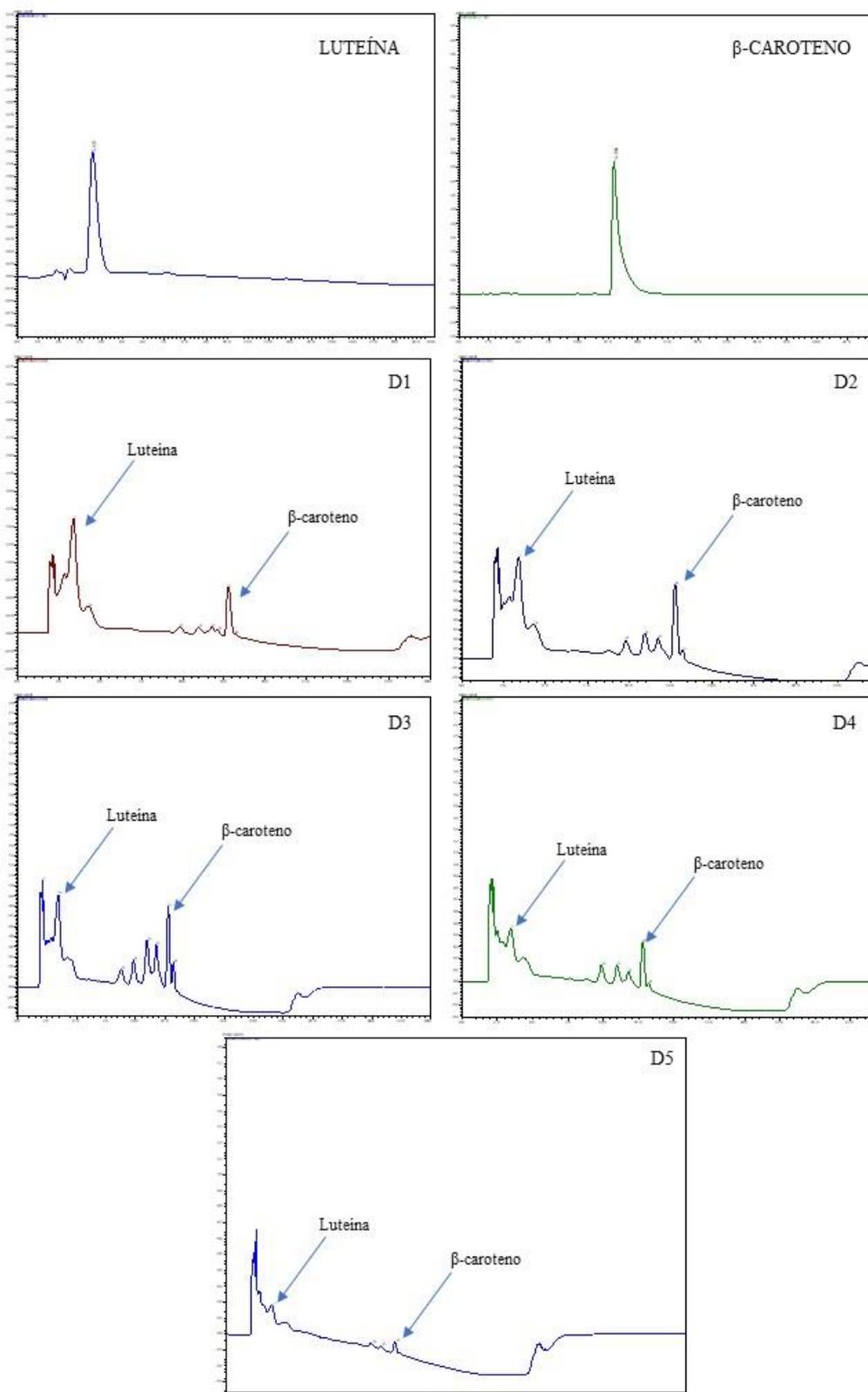


Figura S2 – Cromatogramas dos padrões e das amostras na análise de cromatografia líquida.
Fonte: Do autor (2023).

CONCLUSÕES GERAIS

A partir da presente pesquisa é possível concluir que misturas entre os efluentes produzidos na indústria moveleira, como o esgoto doméstico e o efluente de cabine de pintura, são passíveis de tratamento biológico via crescimento algal em lagoas de alta taxa. Uma vez que as eficiências de remoção encontradas no trabalho atendem às especificações da legislação vigente. A biomassa de algas cultivada nas misturas possui em sua composição valores de até 25% de proteínas, tornando atrativo estudos para o aproveitamento comercial deste subproduto. Além disso, as algas que cresceram nestes meios produzem e acumulam carotenoides, no entanto, há a necessidade de melhorias nas condições de cultivo para um aumento na produção de pigmentos. Contudo, a aplicação desta tipologia de tratamento pode ser promissora para as indústrias, sendo um processo mais simples, sem usos de produtos químicos e com potencial de atendimento à legislação.