



THIAGO SILVA RAMOS

**TRATAMENTO DE EFLUENTE EM LAGOA DE ALTA
TAXA E POTENCIAL ENERGÉTICO DA BIOMASSA
ALGAL**

**LAVRAS – MG
2022**

THIAGO SILVA RAMOS

**TRATAMENTO DE EFLUENTE EM LAGOA DE ALTA TAXA E POTENCIAL
ENERGÉTICO DA BIOMASSA ALGAL**

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

Prof. Dr. Adriano Viana Ensinas
Orientador

Profa. Dra. Paula Peixoto Assemany
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

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

Ramos, Thiago Silva.

Tratamento de efluente em Lagoa de Alta Taxa e potencial
energético da biomassa algal / Thiago Silva Ramos. - 2022.
122 p. : il.

Orientador(a): Adriano Viana Ensinas.

Coorientador(a): Paula Peixoto Assemany.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Cultivo de microalgas em efluente. 2. Recuperação de
nutrientes. 3. Conversão energética. I. Ensinas, Adriano Viana. II.
Assemany, Paula Peixoto. III. Título.

THIAGO SILVA RAMOS

**TRATAMENTO DE EFLUENTE EM LAGOA DE ALTA TAXA E POTENCIAL
ENERGÉTICO DA BIOMASSA ALGAL**

**EFFLUENT TREATMENT IN A HIGH RATE ALGAL POND AND ENERGY
POTENTIAL OF ALGAL BIOMASS**

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

APROVADO em 28 de junho de 2022.
Dra. Livia Seno Ferreira Camargo – UFABC
Dr. Ronaldo Fia – UFLA



Prof. Dr. Adriano Viana Ensinas
Orientador

Profa. Dra. Paula Peixoto Assemany
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2022**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à minha mãe Rosa Helena e meu pai Hamilton que sempre me apoiaram e incentivaram em toda a trajetória até aqui. Assim como minha irmã Bruna.

Em especial à Laura, por todo o companheirismo, compreensão e carinho.

Ao meu orientador professor Adriano Ensinas e à minha coorientadora professora Paula Assemany, pelos valiosos ensinamentos e por acreditarem na realização do trabalho, sempre incentivando nos momentos difíceis e me inspirando a seguir em frente.

Aos professores Dr. Ronaldo Fia (UFLA) e Dra. Lívia Camargo (UFABC), por aceitarem o convite para compor a banca de defesa e aos professores Marcio Leme (UFLA) e Eduardo Couto (UNIFEI), por aceitarem o convite para compor a banca de qualificação. Todos contribuíram significativamente para a melhoria deste trabalho.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAMB), pela amizade e incontáveis festas. Em especial ao Mateus Barbosa, Juliano Siqueira e Samantha Alencar, por tornar as análises de laboratório mais leves e divertidas.

Aos técnicos de laboratório Aline e Marcos, pelo suporte e auxílio nos experimentos em laboratório.

Aos técnicos da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE/UFLA) Tobias, Aroldo e Henrique, pela amizade, suporte e auxílio na construção e operação da Lagoa de Alta Taxa.

À Universidade Federal de Lavras, por proporcionar a base do conhecimento científico, desenvolvimento pessoal e profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelos recursos financeiros providos para a realização do projeto.

“Os poetas reclamam que a ciência retira a beleza das estrelas. Mas eu posso vê-las de noite no deserto, e senti-las. Vejo menos ou mais?” (Richard Feynman)

RESUMO

As lagoas de alta taxa (LATs) compreendem um dos tipos de sistema de cultivo algal e fornecem tratamento para diversos efluentes com eficiência e economia. Entender as limitações e os mecanismos do processo fotossintético, assimilação de nutrientes, degradação de compostos orgânicos e consequente crescimento das microalgas/bactérias são fundamentais para o tratamento de águas residuais e alta produtividade de biomassa. Em síntese, o estudo trouxe várias contribuições para a literatura. Primeiramente, o foco foi o cultivo de algas em LAT com o efluente do reator UASB da Estação de Tratamento de Esgoto da UFLA como fonte de nutrientes (fósforo, nitrogênio e matéria orgânica). Através da manutenção da temperatura e tempo de detenção hidráulica (TDH) foi possível determinar a melhor condição de cultivo com alta produtividade de biomassa, assim como, por análises de laboratório foi possível determinar a eficiência de remoção em conformidade com as legislações ambientais vigentes para disposição de efluentes em corpos d'água. Sob TDH de 10 dias e temperatura variável ao longo do dia foram observadas a produtividades primária e total de biomassa de 0,13 e 4,85 g m⁻² d⁻¹, respectivamente. Nesta condição de operação, a remoção de nitrogênio amoniacal, DQO e fósforo total foram de 89,86, 54,41 e 42,39%, respectivamente. Após, a composição bioquímica da biomassa gerada foi analisada com a finalidade de orientar futuramente o desenvolvimento de rotas de conversão energética. O sistema proposto obteve eficiências de remoção acima do exigido pela legislação e a capacidade de gerar biomassa com significativas propriedades para conversão energética, destacando-se o conteúdo de carboidratos de 19,61%.

Palavras-chave: Cultivo em efluente; Recuperação de nutrientes; Biocombustíveis; Conversão energética.

ABSTRACT

The high rate algal ponds (HRAP) comprise one of algal cultivation system types and provide treatment for various effluents with efficiency and economy. Understanding the limitations and mechanisms of the photosynthetic process, nutrients assimilation, degradation of organic compounds and consequent microalgae/bacteria growth are fundamental for the wastewater treatment and high biomass productivity. In summary, the study brought several contributions to the literature. First, the focus was algae cultivation in HRAP with UASB reactor effluent from the Wastewater Treatment Plant at UFLA as a source of nutrients (phosphorus, nitrogen and organic matter). By maintaining the temperature and hydraulic retention time (HRT) it was possible to determine the best cultivation condition with high biomass productivity, as well as, by laboratory analysis, it was possible to determine the removal efficiency in accordance with current environmental legislation for effluents disposal in water bodies. Under HRT of 10 days and variable temperature throughout the day, primary and total biomass productivity was observed at 0.13 and 4.85 g m⁻² d⁻¹, respectively. In this operating condition, the removal of ammonia nitrogen, COD and total phosphorus were 89.86, 54.41 and 42.39%, respectively. Afterwards, the biochemical composition of generated biomass was analyzed in order to guide energy conversion routes development in the future. The proposed system obtained removal efficiencies above those required by legislation and the ability to generate biomass with significant properties for energy conversion, highlighting the carbohydrate content at 19.61%.

Keywords: Cultivation in effluent; Nutrient recovery; Biofuels; Energy conversion.

LISTA DE FIGURAS

PRIMERA PARTE

Figura 1 – Relação cíclica simbiótica entre bactérias e as algas em uma LAT com efluente como meio de cultura.	2
Figura 2 – Dependência da fotossíntese em relação a irradiância.	7
Figura 3 – Redução exponencial da penetração da luz em função da profundidade.....	8
Figura 4 – Relação entre a densidade populacional, produtividade e taxa de crescimento.	9
Figura 5 – Efeito da radiação e temperatura na taxa de crescimento da espécie <i>Ankistrodesmus falcatus</i> . Irradiância - $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	11
Figura 6 – Variação da concentração de amônia livre em função da temperatura e pH. Assumindo a combinação de NH_4^+ e NH_3 em 50 mg L^{-1} com <i>Scenedesmus obliquus</i> . As setas indicam a níveis de inibição fotossintética: 10% - verde; 50% - vermelha; 90% - azul.	13
Figura 7 – Geometrias de fotobiorreatores fechados. A – placas planas; B – coluna de bolhas; C – air-lift; D – tubular.	15
Figura 8 – Configurações semicircular do final das LATs, sendo: A – padrão, B – ilha central; C – único loop.	17
Figura 9 – Funcionamento da coluna de carbonatação.....	21
Figura 10 – Desenho esquemático do fosso de adição de CO_2	21
Figura 11 – Princípio da oxigenação fotossintética.....	27
Figura 12 – Rotas de conversão para os biocombustíveis.	39
Figura 13 – Rotas da biomassa para os biocombustíveis em base úmida e seca.....	40

SEGUNDA PARTE

Figure 1. Flowchart of HRAP inputs and outputs.	78
Figure 2. Genus of microalgae observed in each operational phase. A 40x objective lens was used.....	82
Figure 3. Removal efficiency (%) of N-NH ₃ and COD removal throughout the phases.	88
Figure 4. Removal efficiency (%) of N-NH ₃ and total phosphorus removal throughout the phases.....	90

LISTA DE TABELAS

PRIMERA PARTE

Tabela 1 – Produção comercial e tratamento de efluentes em diferentes localidades em LATs.....	23
Tabela 2 – Remoção de DBO solúvel, fósforo total, nitrogênio amoniacal em LATs com pré e pós tratamento.....	32
Tabela 3 – Espécies de algas cultivadas em sistemas abertos e variados tipos de efluente.	33
Tabela 4 – Eficiência de remoção de DQO em diferentes sistemas de tratamento de efluente com cultura de algas.	35
Tabela 5 – Eficiência de separação da biomassa.	36
Tabela 6 – Caracterização dos processos de separação.	37
Tabela 7 – Vantagens e desvantagens dos processos de separação.....	37
Tabela 8 – Rendimentos e propriedades elementares de espécies de microalgas pelo processo LHT.	42
Tabela 9 – Potenciais teóricos de metano a partir de valores médios de carbono, nitrogênio, hidrogênio e oxigênio.....	45
Tabela 10 – Estudo da gaseificação supercrítica com variação da concentração de biomassa.	46
Tabela 11 – Composição da mistura gasosa derivado da gaseificação supercrítica.....	47

SEGUNDA PARTE

Table 1. Analysis and applied methods.	78
Table 2. Monitoring of temperature and pH between phases.	81
Table 3. Biomass production (mean values and standard deviation in parentheses).....	82
Table 4. Characterization of the HRAP input (influent) and output (effluent), removal efficiency, and nutrients assimilation in each operational phase (mean values and standard deviation in parentheses).	84
Table 5. Biochemical characterization of the biomass, in percentage (mean values and standard deviation in parentheses).....	91

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	4
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	5
3.1 INTRODUÇÃO	5
3.2 Microalgas	5
3.3 Fatores que influenciam o cultivo	7
3.3.1 Luminosidade	7
3.3.2 Temperatura	10
3.3.3 pH	12
3.3.4 Oxigênio Dissolvido	14
3.4 Cultivo de microalgas	14
3.4.1 Cultivo de microalgas em efluente	15
3.4.2 Sistemas fechados	15
3.4.3 Sistemas abertos	16
3.4.3.1 Lagoas de alta taxa	17
3.5 Fatores que interferem no cultivo de algas em LAT	18
3.5.1 Profundidade	18
3.5.2 Velocidade horizontal	18
3.5.3 Tempo de detenção hidráulica	19
3.5.4 Adição de CO₂	19
3.5.4.1 Coluna de carbonatação	20
3.5.4.2 Fosso de adição de CO₂	21
3.5.5 Transferência de carbono	22
3.6 Produção de biomassa em LAT	22
3.7 Nutrientes	24
3.7.1 Dióxido de carbono	25
3.7.2 Carbono orgânico	26
3.7.3 Remoção de poluentes em LAT	27
3.7.3.1 Nitrogênio	28
3.7.3.2 Fósforo	30
3.8 Eficiência de remoção de nutrientes	31

3.9 Sistema de colheita, concentração e secagem	36
3.10 Biomassa algal para biocombustíveis.....	39
3.10.1 Conversão da biomassa úmida	40
3.10.1.1 Produção de óleo por liquefação hidrotermal.....	40
3.10.1.2 Digestão anaeróbia.....	44
3.10.1.3 Gaseificação supercrítica.....	45
3.11 Conclusão.....	47
REFERÊNCIAS.....	49
SEGUNDA PARTE	75
ARTIGO – “High rate algal pond for biomass production and nutrient recovery from wastewater treatment plant effluent: effect of hydraulic retention time and temperature”	75
Abstract.....	75
1 Introduction.....	75
2 Materials and methods	77
2.1 Laboratory analysis	78
2.2 Statistical analysis	80
3 Results and discussion	81
3.1 HRAP monitoring.....	81
3.2 Biomass production	81
3.3 Nutrient removal.....	84
3.3.1 Organic matter	85
3.3.2 Nitrogen	86
3.3.3 Phosphorus	89
3.4 Biomass characterization	91
3.4.1 Carbohydrates.....	91
3.4.2 Proteins	92
3.4.3 Lipids.....	93
3.4.5 Ash.....	94
3.4.6 Higher heating value.....	95
3.4.7 Biomass valorization.....	95
4 Conclusion	96
Acknowledgments	96
References.....	97

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

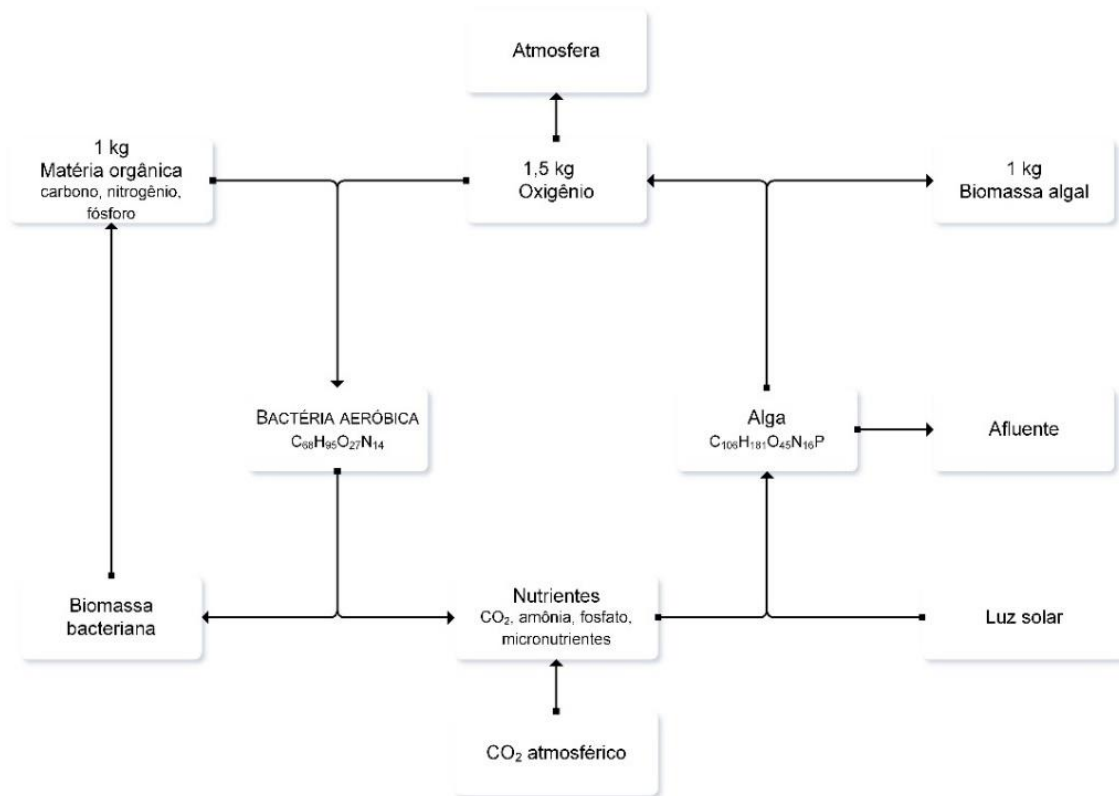
A produção de esgoto doméstico *per capita*, assim como suas características física, química e biológica, depende diretamente de fatores como a renda familiar e a localidade, possuindo valor médio de 200 L hab⁻¹ dia⁻¹ (ARAUJO, 2003). Em sua composição pode-se encontrar 99,9% de água e apenas 0,1% de sólidos, sendo que aproximadamente 75% desses sólidos, são matéria orgânica (JORDÃO; PESSÔA, 1995; NUVOLARI, 2003). Dentre os componentes que estão presentes, destaca-se: material sólido particulado suspenso, compostos orgânicos, nutrientes (nitrogênio e fósforo), metais, sólidos dissolvidos, compostos inorgânicos, sólidos inertes, sólidos grosseiros, organismos patogênicos e dependendo do efluente, compostos tóxicos (NETO; CAMPOS, 1999). Os compostos orgânicos contidos nos esgotos são principalmente proteínas (40-60%), carboidratos (25-50%), gorduras/óleos (10%), surfactantes, fenóis, entre outros (JORDÃO; PESSÔA, 1995).

Para o tratamento biológico de efluentes, o tratamento secundário pode ser feito utilizando os Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanked Reactor*), destacando-se devido a sua adaptação às condições climáticas, operacionalidade simples, baixa produção de lodo, possibilidade de energia através do biogás e baixos custos (CATUNDA; VAN HAANDEL, 1987; CHERNICHARO, 1997; LETTINGA *et al.*, 1980). O processo anaeróbio apresenta vantagens em relação aos processos convencionais quando construído em locais de clima tropical, como é o caso das cidades brasileiras.

A temática do tratamento terciário de efluentes utilizando algas torna-se factível ao proporcionar alta eficiência de remoção de organismos patogênicos e nutrientes, assim como possibilita a recuperação da biomassa. Dentre os sistemas de cultivo, destacam-se as Lagoas de Alta Taxa (LAT) devido a sua eficiência energética, baixo custo operacional e simplicidade de construção. Os primeiros estudos das LATs foram desenvolvidos por Oswald e colaboradores na década de 1950 como uma alternativa às lagoas facultativas, mostrando maior remoção de compostos orgânicos e nutrientes (CRAGGS; LUNDQUIST; BENEMANN, 2012).

Os sistemas de cultivo em LATs podem conter bactérias aeróbicas e microalgas, além de outros organismos como protozoários, helmintos e fungos, para sintetizar compostos ricos em proteínas e lipídios a partir da decomposição biológica da matéria orgânica. Quando as microalgas crescem em águas residuais com grande concentração de nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo) e matéria orgânica, a relação simbiótica resultante com as bactérias é capaz de criar uma eficiente tecnologia em termos energéticos e com baixo consumo de insumos (Figura 1). As algas, além de fornecerem oxigênio para bactérias, são capazes de adsorver e remover metais pesados dos efluentes (OSWALD, 1987).

Figura 1 – Relação cíclica simbiótica entre bactérias e as algas em uma LAT com efluente como meio de cultura.



Fonte: Adaptado de Nurdogan (1989).

Juntamente com o tratamento de águas residuais, o cultivo de algas pode proporcionar rotas de conversão da biomassa em energia, mostrando-se uma alternativa para a diversificação da matriz energética e contribuição parcial frente ao aumento

populacional mundial associado conseqüentemente ao aumento da demanda por energia em níveis que podem comprometer o crescimento econômico. Atualmente, a matriz energética é suprida principalmente por fontes não renováveis de energia como os combustíveis fósseis, cuja instabilidade dos preços e questões ambientais (poluição do ar e as mudanças climáticas) são fatores cada vez mais discutidos internacionalmente. No que tange às mudanças climáticas, citando Pires *et al.* (2012), o equilíbrio entre as emissões e fixação de CO₂ pode ser alcançado por três estratégias: melhoria da eficiência dos processos energéticos; desenvolvimento de energias renováveis competitivas; proteção e recuperação florestal. Neste contexto, o processo produtivo dos biocombustíveis a partir de algas apresentam o potencial de reduzir, as emissões de dióxido de carbono para a atmosfera e não competem pelo uso da terra com culturas agrícolas para o mercado de alimentação.

A cultura algal atraiu a atenção da comunidade científica devido a sua alta produtividade de biomassa. Dalrymple *et al.* (2013) citam que as taxas de produção comercial em LAT podem alcançar até 40 g m⁻² d⁻¹, representando valores para um processo industrial de cultivo. Segundo Chisti (2007) as altas taxas de crescimento aliadas a capacidade de fixação de CO₂ são características fundamentais para considerações como alternativa promissora para a produção de biocombustíveis. Entretanto, o custo de produção ainda é um fator limitante, com a escala industrial restrita a produtos de alto valor agregado. O aumento nos preços dos nutrientes é uma das contribuições significativas para o custo da produção. Sendo assim, para obter biomassa algal a baixo custo, a integração dos processos deve ser realizada. A utilização de águas residuais também apresenta a vantagem de reduzir a necessidade por água doce, além de servir de fonte de nutrientes. Outros aspectos como a eficiência energética dos processos de separação e processamento da biomassa também devem ser levados em consideração para viabilizar o potencial energético.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar o potencial de produção de biomassa e tratamento de efluente em lagoa de alta taxa utilizando efluente do reator UASB da Estação de Tratamento de Esgoto da Universidade Federal de Lavras (ETE/UFLA).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a produtividade de biomassa microalgal/bacteriana;
- Determinar a eficiência de remoção de matéria orgânica e nutrientes;
- Avaliar o efeito da manutenção da temperatura em 28 °C e TDH de 5 e 10 dias na produtividade de biomassa e remoção de matéria orgânica e nutrientes;
- Caracterização bioquímica da biomassa para potencial valorização energética.

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 INTRODUÇÃO

A crescente industrialização e urbanização, aliadas a uma conscientização sobre a necessidade de um ambiente limpo e verde, forçaram os ambientalistas, industriais e governos a procurar soluções eficientes, duradouras e econômicas para o tratamento e a reciclagem de águas residuais. Os tratamentos de águas residuais industriais e domésticas por processos físicos e químicos são invariavelmente caros para a implementação em indústrias, particularmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos. Portanto, a importância do tratamento biológico de baixo custo das águas residuais usando culturas de algas/bactérias, em comparação com as estações de tratamento de águas residuais convencionais, atraiu a atenção dos pesquisadores em todo o mundo. A vantagem comparativa deste tratamento depende das características do efluente, principalmente sua biodegradabilidade (razão DBO/DQO). As culturas apresentam às suas vantagens de crescimento rápido, alto teor de lipídios/carboidratos, sinergia com a biofixação de CO₂ e biorremediação de águas residuais.

O sistema de algas mostra-se uma alternativa eficiente no tratamento de águas residuais e é capaz de produzir subprodutos como a biomassa, capaz de ser convertida em biocombustíveis. Cultivos em larga escala em LATs apresentam simplicidade construtiva e custo operacional inferior se compararmos com os sistemas de cultivo fechado, assim como maior área útil. Este capítulo apresenta as bases dos mecanismos, vantagens e limitações do cultivo de alga em LATs, abordando também, as técnicas de separação e as rotas de conversão da biomassa em biocombustíveis.

3.2 Microalgas

As microalgas são organismos com difícil valoração taxonômica, já que o nome define organismos muito distintos entre si quanto sua origem e características. Podemos diferenciar as macroalgas (com dimensões macroscópicas) das microalgas (com dimensões microscópicas) (LOURENÇO, 2006). Podem compreender os grupos procarióticos ou eucarióticos, sendo capazes de crescer rapidamente e viver em condições adversas devido à sua simples morfologia. As espécies procarióticas são conhecidas como cianobactérias (*Cyanophyceae*) e as eucarióticas compreendem as algas verdes

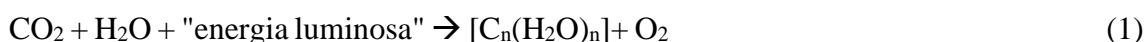
(*Chlorophyta*), diatomáceas (*Bacillariophyta*), entre outros grupos (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Através do sequenciamento genético, assim como dados do cloroplasto e do genoma nuclear, as algas verdes podem ser divididas em dois grupos, os clorófitos e charófitos. Constituindo um dos maiores grupos conhecidos, com grande variedade de níveis de organização.

As cianobactérias, ou algas azuis, são conhecidos como o grupo mais antigo de algas. A princípio, sua classificação era estritamente baseada na morfologia. A maioria das espécies possuem clorofila-*a*, ficocianina e ficoceritrina como moléculas de captação da luz. As cianobactérias são autotróficas, fotossintetizantes e liberam oxigênio em seus processos metabólicos, compartilhando a ecofisiologia com algas eucarióticas (CHISHOLM *et al.*, 1992).

As espécies de algas vermelhas possuem clorofila-*a* e ficobilisomos (complexos de pigmentos com aloficocianina, ficocianina e ficoceritrina), encontrados na superfície das membranas dos tilacóides. São caracterizadas por não possuir flagelos e centríolos durante todo o ciclo de vida. Segundo Yoon, Mukerjea e Robyt (2003) a base da árvore filogenética apresenta muita diversidade entre as espécies.

Fotossinteticamente, as algas são capazes de usar a luz solar para metabolizar o dióxido de carbono (CO₂) em compostos orgânicos [C_n(H₂O)_n], gerando oxigênio como subproduto. O crescimento normal de microalgas fotoautotróficas pode ser definido pela seguinte equação (REITH *et al.*, 2003):



Algas heterotróficas obtêm nutrientes para seu metabolismo a partir de compostos orgânicos produzidos por outros organismos. Grandes quantidades de espécies podem ser cultivadas exclusivamente em substratos orgânicos, mostrando uma opção viável em sistemas com fotobiorreatores fechados para produção de biomassa e bio-compostos (MENDES *et al.*, 1995). Para determinadas espécies, a presença de luz é necessária para a assimilação dos compostos orgânicos como forma de nutriente, conhecidas como algas foto-heterotróficas.

O crescimento mixotrófico é equivalente a autotrofia e heterotrofia, onde os compostos orgânicos e CO₂ são necessários. Lee (1986) relatou que em cultivos com ausência de luz a heterotrofia predomina perante a mixotrofia. Em estudo com a espécie

Chlorella sorokiniana, houve crescimento apenas com glicose durante a noite, enquanto durante o dia foi utilizado CO₂ e glicose. Nirmalakhandan *et al.* (2019) mostraram que o crescimento mixotrófico é superior ao crescimento foto-autotrófico quanto a produtividade, em respectivamente, 0,282 e 0,035 g L⁻¹ d⁻¹.

3.3 Fatores que influenciam o cultivo

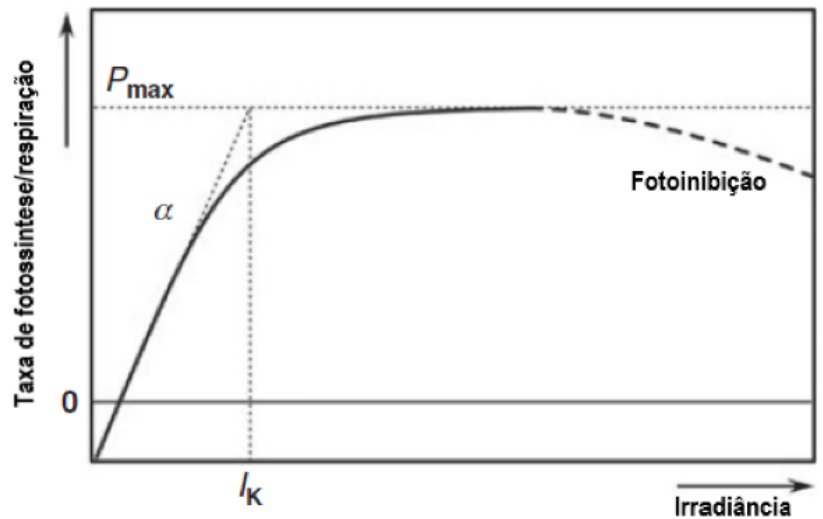
A relação entre fatores químicos, físicos e biológicos tem fundamental importância para o crescimento algal, podendo otimizar ou inibir (SKJANES; REBOURS; LINDBLAD, 2013). Efeitos como a luz, temperatura, pH e nutrientes são indicados a seguir.

3.3.1 Luminosidade

Segundo Derner *et al.* (2006), o carbono fixado pelas microalgas é influenciado pela quantidade de luz que as células recebem em cultivo, tendo fator de variação a taxa de crescimento.

Com o excesso de luz pode ocorrer a fotoinibição, ou seja, a inibição da fotossíntese. Classifica-se este fenômeno como moderado ou intenso, determinando a fotoinibição dinâmica ou crônica (TAIZ; ZEIGER, 2006). A fotossíntese aumenta proporcionalmente a intensidade da luz até que a taxa máxima de crescimento alcance o ponto de saturação da luz. Na Figura 2 pode ser observado que a inclinação da curva (α) é compreendida como a eficiência máxima de utilização da luz e a interseção entre a taxa máxima de fotossíntese P_{\max} e α é a irradiância da saturação de luz ideal (I_k).

Figura 2 – Dependência da fotossíntese em relação a irradiância.

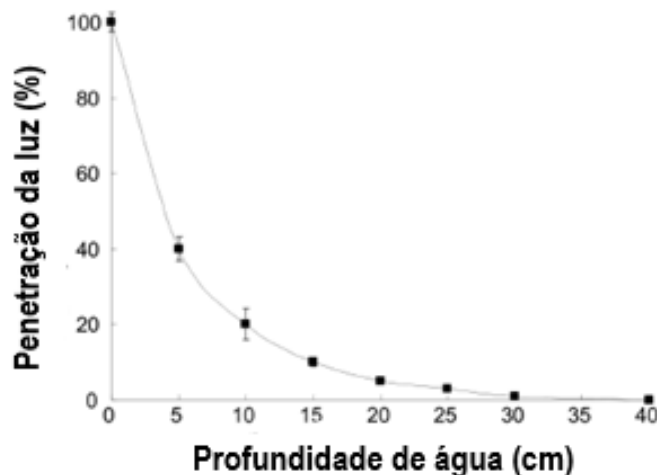


Fonte: Adaptado de Richmond (2004).

Devido ao fluxo de água ao dentro da lagoa proporcionado pelas rodas de pás, a mistura vertical do fluido garante que a biomassa seja exposta intermitentemente à luz (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2013). A luz que penetra a coluna de água da LAT diminui exponencialmente em relação a profundidade, à medida em que as algas absorvem ou dispersam a luz. Altas concentrações de material particulado não algal ou sólidos dissolvidos em águas residuais podem aumentar significativamente a atenuação da luz, devido a característica turva do meio (BOROWITZKA, 1998).

A alta produtividade de biomassa em baixa profundidade ocorre devido à penetração de luz na água. Como pode ser observado na Figura 3, a penetração de luz na água em função do aumento da profundidade da água diminuiu drasticamente em LATs e ambientes aquáticos.

Figura 3 – Redução exponencial da penetração da luz em função da profundidade.



Fonte: Kim *et al.* (2018).

Em culturas de larga escala, a relação entre a luz e a produtividade se relaciona devido a densidade populacional das algas, a quantidade de luz variando ao longo do dia e das estações do ano.

A quantidade de luz I na profundidade d pode ser descrita segundo a lei de Beer Lambert's (KIRK, 1994):

$$I = I_0 e^{(-n_e d)} \quad (2)$$

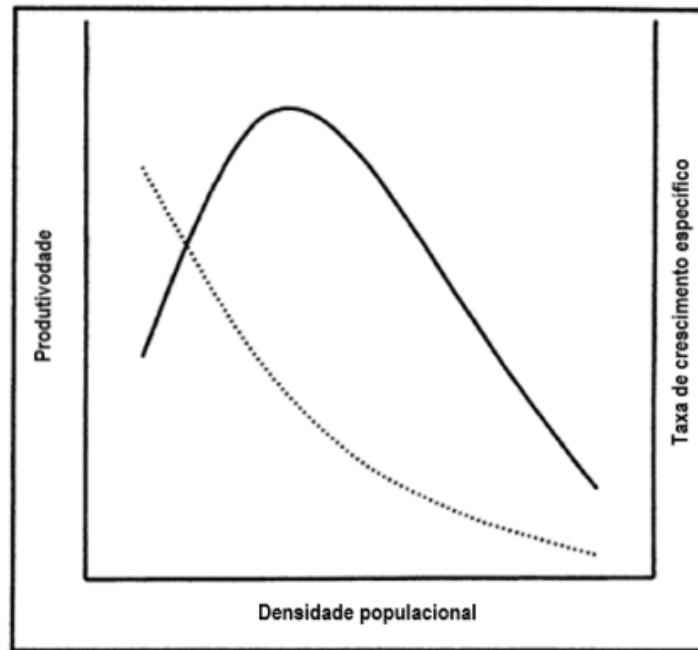
Onde, I_0 é a irradiação superficial e n_e é o coeficiente de extinção geral calculado pela equação:

$$n_e = n_s + n_c [Chla] \quad (3)$$

Onde, n_s é o coeficiente de extinção de todos os sólidos em suspensão ($\sim 15 \text{ m}^{-1}$), n_c é o coeficiente de extinção específico da clorofila- a ($0,11 \text{ m}^{-2} \text{ mg}^{-1} \text{ chla}$) e $[Chla]$ é a concentração de clorofila- a ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$).

As equações mostram que o aumento da densidade celular reduz a quantidade de luz que atinge as algas mais profundas da LAT, levando à limitação da luz das células. Kroon *et al.* (1989) modelaram a relação entre a densidade populacional (g L^{-1}), produtividade ($\text{g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) e a taxa de crescimento específica (dia^{-1}) em cultura *outdoor* de *Spirulina platensis* (Figura 4).

Figura 4 – Relação entre a densidade populacional, produtividade e taxa de crescimento.



Fonte: Adaptado de Kroon *et al.* (1989).

A alta produtividade acontece quando a taxa de crescimento específica não é máxima e há alta eficiência fotossintética. Estudos realizados por Falkowski (1984) mostraram que em baixas densidades celulares, a eficiência fotossintética é reduzida devido à fotoinibição, dependendo da radiação incidente.

Portanto, a luz é de fundamental importância em culturas de algas, tornando-se limitante devido a absorção pelas células na coluna d'água. Entretanto, o conteúdo de material particulado e a presença de substâncias derivadas das águas residuais permitem que a fotoinibição não aconteça (LAU; TAM; WONG, 1995).

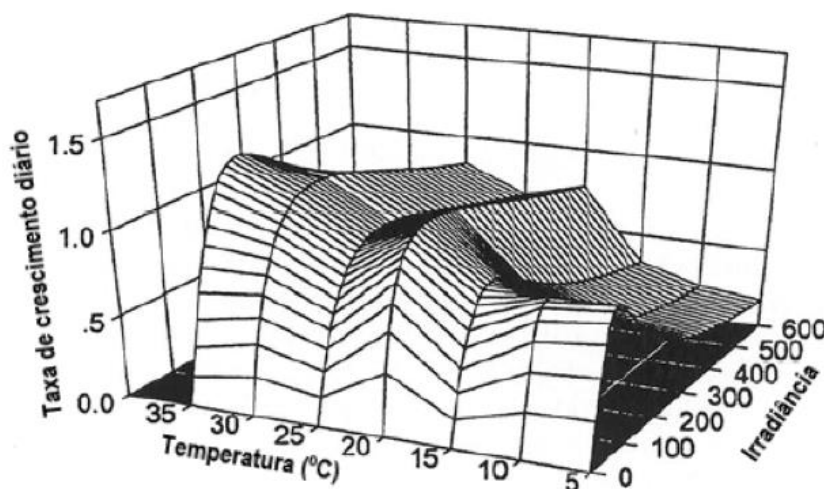
3.3.2 Temperatura

Várias algas verdes são capazes de tolerar temperaturas muito baixas (menores que 5 °C), como a *Chlamydomonas nivalis* e *Chloromonas nivalis*, que podem ser observadas em locais com gelo e neve (MORGAN-KISS *et al.*, 2006). Em contrapartida a alga *Chlorella sokoriniana* apresenta tolerância de até 42 °C (DE-BASHAN *et al.*, 2008; SAKAI *et al.*, 1995). Apesar da variação dependendo da espécie de cultivo, em vias gerais, a temperatura ótima de cultivo está entre 20 e 25 °C (BOROWITZKA, 1998).

A diminuição na temperatura de crescimento abaixo do nível ótimo pode aumentar o grau de insaturação dos lipídios nos sistemas da membrana celular, particularmente as membranas dos tilacoides, que são responsáveis por proteger os mecanismos fotossintéticos da fotoinibição (RICHMOND, 2004). Segundo Ras, Steyer e Bernard (2013), cultivos com temperatura ótima em relação a espécie leva ao aprimoramento das atividades enzimáticas conectadas ao ciclo de Calvin, proporcionando uma fotossíntese e divisão celular mais eficientes. Por outro lado, acima da temperatura ideal da espécie, a taxa de crescimento tende a diminuir, devido principalmente ao estresse térmico, podendo desnaturar proteínas/enzimas essenciais envolvidas no processo fotossintético (RAS; STEYER; BERNARD, 2013). Estudos realizados por Picot *et al.* (1994) demonstraram que a temperatura e radiação solar afetam as taxas de remoção de nutrientes pelas algas.

A irradiância também interage fortemente com a temperatura. A taxa de crescimento de microalgas aumenta com o aumento da temperatura até que a temperatura ideal seja atingida, quando a temperatura ultrapassa o limite da espécie em cultivo geralmente ocorre um rápido declínio na taxa de crescimento (DAUTA *et al.*, 1990). Em temperaturas próximas ao ideal para o crescimento, as algas também são mais tolerantes a irradiâncias maiores antes da fotoinibição. A Figura 5 mostra a relação entre temperatura e irradiância para a espécie *Ankistrodesmus falcatus*, normalmente encontrado em tanques de oxidação.

Figura 5 – Efeito da radiação e temperatura na taxa de crescimento da espécie *Ankistrodesmus falcatus*. Irradiância - $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.



Fonte: Adaptado e recalculado de Talbot *et al.* (1991).

O aquecimento da LAT leva em consideração, principalmente, a temperatura do ar e a profundidade (AKSU *et al.*, 1998). Lagoas rasas tendem a aquecer rapidamente e esfriar no começo da noite. De acordo com Singh e Partidar (2018), a manutenção da temperatura é um desafio em lagoas abertas, com variações sazonais entre 7,2 e 25 °C. Oswald (1988) relata que a variação de temperatura em LAT pode ocorrer entre 5 e 30 °C, assim como, os sistemas abertos são favoráveis em locais com clima anual adequado para facilitar a produtividade de biomassa e remediação ao longo do ano.

3.3.3 pH

As microalgas verdes são encontradas em ambientes com diferentes pH, algumas poucas espécies são capazes de fazer fotossíntese e crescer sob pH abaixo de 3. A *Chlamydomonas acidófila* derivada de ambientes ácidos pode crescer a um pH de 1,5, com limite superior a pH 7 (GERLOFF-ELIAS; SPIJKERMAN; PRÖSCHOLD, 2005). Estudos realizados por Makareviciene *et al.* (2011), mostraram que o valor do pH variou de 6,42 a 7,08 sob a concentração de 24% de CO₂ para a microalga *Chlorella* sp. enquanto a microalga *Chlorella vulgaris* manteve a taxa de crescimento máxima na ampla faixa de pH entre 6,0 a 9,0, mas houve a inibição do crescimento quando o pH baixou para 5,0.

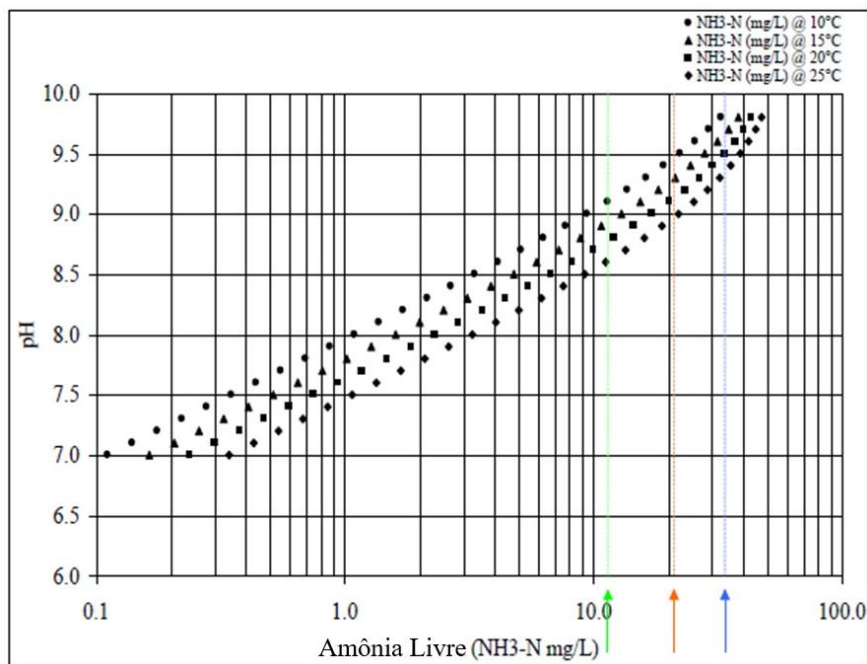
A elevação do pH está diretamente relacionada com o consumo de CO₂ dissolvido no meio de cultivo. Sua regulação pode ser feita com a aeração dos cultivos, com bombeamento de ar atmosférico (0,03% de CO₂) enriquecido com CO₂ com concentração ideal para determinadas espécies de algas (LOURENÇO, 2006).

Quando o nitrogênio é fornecido sob a forma NH_4^+ , o aumento de pH no meio de cultura pode diminuir a concentração de nitrogênio para o metabolismo algal (GUŠTIN; MARINŠEK-LOGAR, 2011). Em valores elevados de pH, o equilíbrio químico do $N - NH_4$ é deslocado no para a produção de NH₃ gasoso é perdido para a atmosfera devido a aeração da cultura, reduzindo a disponibilidade de nitrogênio. Segundo Wang e Nancollas (2008), valores elevados de pH também influenciam a disponibilidade de fósforo no meio de cultura, a alta alcalinidade pode trazer a precipitação do fosfato sobre as formas de fosfato de cálcio, fosfato de ferro e fosfato de alumínio.

A volatilização da amônia e a precipitação do fosfato podem interferir na remoção de nutrientes nas LATs quando o pH do meio de cultura é >9, com até 32% da remoção

nitrogênio sendo atribuídas à volatilização da amônia, a depender dos parâmetros de cultivo (AZOV; GOLDMANN, 1982; GARCÍA; MUJERIEGO; HERNANDEZ-MARINE, 2000). O controle de pH por adição de CO₂ pode ser uma alternativa para manter a alta eficiência da remoção de nutrientes por assimilação da cultura e evitar a volatilização. Pesquisas realizadas por Azov e Goldman (1982) em lagoas de tratamento durante o verão do sul da Austrália mostraram a influência das variações de pH em relação a temperatura e amônia livre, como pode ser observado na Figura 6 a seguir:

Figura 6 – Variação da concentração de amônia livre em função da temperatura e pH. Assumindo a combinação de NH₄⁺ e NH₃ em 50 mg L⁻¹ com *Scenedesmus obliquus*. As setas indicam a níveis de inibição fotossintética: 10% - verde; 50% - vermelha; 90% - azul.



Fonte: Adaptado de Azov e Goldman (1982).

Fisiologicamente, o pH do citoplasma das algas é neutro, ou pouco alcalino, em condições ácidas as funções de enzimas podem ficar inativadas, afetando diretamente a produtividade do sistema (CHIRANJEEVI; MOHAN, 2016). Condições extremas de pH podem prejudicar muitos processos celulares e conduzir ao colapso da cultura (JIA; YUAN, 2017).

3.3.4 Oxigênio Dissolvido

Devido a ação fotossintética das algas os altos níveis de oxigênio dissolvido (OD) podem ser encontrados em sistemas aquáticos. Sweeney *et al.* (2007) relataram níveis de 20 mg L⁻¹ nas camadas superiores de uma lagoa de estabilização durante o verão. A atenuação da luz varia de acordo com a coluna de água e afeta significativamente a estratificação do OD, com quase toda a luz efetiva absorvida na camada superficial em cultivos sem a movimentação por pás (HAAG; HOIGNE, 1986).

A intensa ação fotossintética também aumenta os níveis de OD, geralmente para 200 a 300% de saturação. A supersaturação pode ocasionar a degradação bacteriana dos compostos orgânicos e inibir a produtividade das algas, particularmente em alto pH e limitação de carbono (WEISSMAN; GOEBEL; RAYMOND, 1988). Por outro lado, valores de OD acima da saturação podem contribuir com a desinfecção do efluente, inativando organismos patogênicos.

Convencionalmente, o oxigênio é um produto da fotossíntese. Entretanto, as altas concentrações de oxigênio dissolvido são limitantes ao cultivo de algas. A competitividade por oxigênio no Rubisco (fotorrespiração) e a fotoinibição são dois mecanismos que influenciam negativamente o meio de cultura, na presença de altas concentrações de oxigênio e em níveis elevados de irradiância o fotossistema II pode sofrer danos celulares com a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (RASO *et al.*, 2011). Para evitar inibições e danos, Chisti (2007) sugere que o nível máximo tolerável de OD não deve ultrapassar 400% da saturação do ar. A depender do tipo de efluente de cultivo, através da pouca disponibilidade e baixa relação C:N a fotossíntese é maior que a respiração celular, acarretando na acumulação de OD.

3.4 Cultivo de microalgas

Tanto na escala laboratorial quanto industrial, o cultivo de microalgas é particularmente realizado de duas maneiras: Sistemas abertos, como as LATs, ou sistema fechados, como é o caso dos fotobiorreatores tubulares, placas planas e *air-lift* (Garcia *et al.*, 2003).

3.4.1 Cultivo de microalgas em efluente

Os efluentes domésticos, agrícolas e industriais podem fornecer elevadas concentrações de compostos que se lançados em corpos hídricos sem tratamento trarão à eutrofização do meio, provocando impactos negativos como: substituição de espécies dominantes, dano na biodiversidade, aumento da toxicidade e turbidez (CAI *et al.*, 2013).

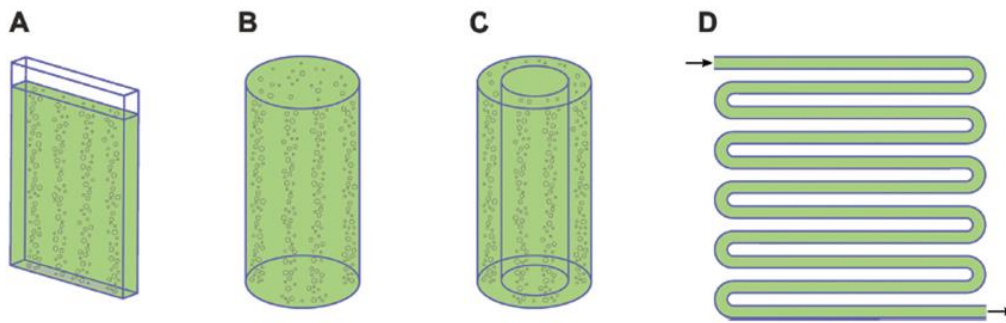
Durante o crescimento algal, os efluentes podem servir de fonte nutricional de baixo custo, incorporando os nutrientes orgânicos e inorgânicos na biomassa. Segundo Chen, Zhao e Qi (2015), a integração de um sistema de tratamento de efluente com a produção algal traz o conceito de “resíduo zero” no processo produtivo de biocombustíveis, já que reduz a utilização de meios de cultura sintéticos químicos.

Os processos antrópicos geram efluentes com diferentes características físicas e químicas. Os efluentes proveniente de processos industriais, em linhas gerais, podem apresentar maior concentração de metais pesados e menos nutrientes em relação aos efluentes domésticos e agrícolas. Necessitando de espécies com capacidade de sorção de metais para alcançar a alta eficiência na produtividade e no tratamento (CAI *et al.*, 2013). Em contrapartida, efluentes domésticos e agrícolas têm como características maiores concentrações de nutrientes, mas diferentes composições, dependendo da localidade, pré ou pós tratamento, tipo de cultura agrícola, entre outros.

3.4.2 Sistemas fechados

Neste tipo de sistema há um maior controle de processo, já que o fotobiorreator não está em contato direto com o ambiente externo, reduzindo possíveis contaminações por organismos externos (Figura 7). Entretanto, este tipo de sistema apresenta alto custo de construção, sendo indicado para cultivos de produtos com alto valor agregado.

Figura 7 – Geometrias de fotobiorreatores fechados. A – placas planas; B – coluna de bolhas; C – air-lift; D – tubular.



Fonte: Adaptado de Hallmann (2015).

Jorquera *et al.* (2010) mostraram um *net energy ratio* (NER) de 4,51 e 0,2 quanto a produção de biomassa para os sistemas placa plana e tubular, respectivamente. Slade e Bauen (2013) citam que a energia requerida para o bombeamento do meio de cultura nos sistemas tubulares representa de 86 a 92% da fração energética, devido a necessidade de maior circulação para superar as perdas atrito. Já os fotobiorreatores tipo placa plana representam uma demanda de 22%. Os autores relatam que fotobiorreatores tubulares apresentam um custo projetado de aproximadamente 3,8 euros por kg de biomassa.

3.4.3 Sistemas abertos

O sistema aberto (Figura 7) apresenta maior economia de implantação e operação para o cultivo comercial de microalgas em grande escala, com produtividades de biomassa entre 60-100 mg L⁻¹ d⁻¹ (TREDICI *et al.*, 2004). Entretanto, Ting *et al.* (2017) destacam que este tipo de sistema apresenta limitações devido a contaminação por bactérias e outros microrganismos para a produção de microalgas de alto valor agregado, como produtos químicos finos e pigmentos naturais (TING *et al.*, 2017).

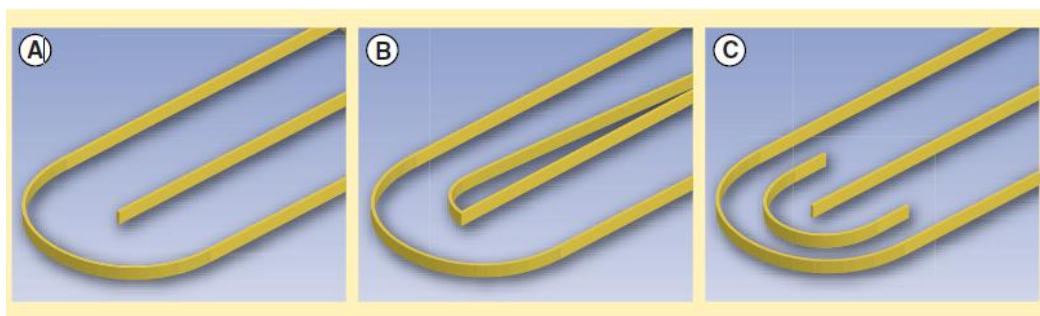
Para a produção de biomassa, o sistema *raceway* mostrou um NER de 8,34 (JORQUERA *et al.*, 2010). Durante a fase de cultivo em lagoas tipo *raceway*, a energia necessária a circulação do fluido é de 22 a 79% da fração energética quanto as operações e, por sua vez, o custo de projeto é de 0,3 a 0,4 euros por kg de biomassa (SLADE; BAUEN, 2013).

3.4.3.1 Lagoas de alta taxa

As lagoas de alta taxa (LAT) são sistemas abertos com profundidade entre 0,2 e 1 m, mistura fornecida por uma roda de pás com velocidade horizontal média entre 0,15 e 0,3 m s^{-1} , além de poder possuir dispositivos para adição de CO_2 . A geometria (Figura 8) do sistema pode ser compreendida com um único *loop* ou vários *loops* em torno das paredes, assim como possuir ilha central.

A taxa de entrada de nutrientes orgânicos, o tempo de detenção hidráulica (TDH), a profundidade, o suprimento de CO_2 , assim como as velocidades de mistura vertical e horizontal são parâmetros principais que podem ser modificados durante a operação (CRAGGS *et al.*, 2014). Variando, geralmente, em função das condições climáticas as características físicas e químicas do ambiente (MARA, 1996). Fallowfield, Cromar e Evans (2001) citam que as condições operacionais resultam em altas taxas de fotossíntese e consequente produção de oxigênio dissolvido, resultando diretamente no potencial de tratamento da DQO, DBO_5 e recuperação de nutrientes.

Figura 8 – Configurações semicircular do final das LATs, sendo: A – padrão, B – ilha central; C – único *loop*.



Fonte: Adaptado de Sompech, Chisti e Srinophakun (2012).

A biomassa presente em LATs é composta de 70 a 90% de algas juntamente com bactérias, e pequenas quantidades de invertebrados, fungos e vírus (BENEMANN *et al.*, 1980; AZOV; GOLDMAN, 1982; LUNDQUIST, 2008). Naturalmente o meio de cultura tende a selecionar espécies de algas propensas as variações de luz solar, temperatura e oxigênio dissolvido (WEISSMAN; GOEBEL; BENEMANN, 1988).

3.5 Fatores que interferem no cultivo de algas em LAT

3.5.1 Profundidade

A profundidade e a concentração de biomassa determinam o grau de atenuação da radiação luminosa nas LATs, e conseqüentemente o volume de cultivo exposto a luz para realização da fotossíntese. Estudos presentes na literatura relatam valores variando entre 15 e 100 cm, enquanto há autores que recomendam manter a menor profundidade possível para a luz conseguir penetrar até a parte inferior da lagoa. (KROON *et al.*, 1989, LARSDOTTER, 2006; PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011). Entretanto, Vasumathi, Premalatha e Subramanian (2012) destacam que baixas profundidades podem causar danos as células das algas devido ao excesso de luz, reduzindo sua capacidade fotossintética.

As LATs rasas melhoram a proporção da coluna d'água com luz ao mesmo tempo em que ocorre instabilidade térmica perante às maiores flutuações de temperatura em relação as lagoas mais profundas (SUTHERLAND *et al.*, 2015). Maiores profundidades podem ocasionar maior demanda por energia e maior formação de zonas mortas (HADIYANTO *et al.*, 2013). Em se tratando do tratamento de efluentes, a profundidade é uma das principais variáveis que influencia principalmente na desinfecção, já que afeta diretamente a exposição do volume da LAT à radiação solar, assim como altera a eficiência atividade fotossintética e o pH do meio (YOUNG; BUCHANAN; FALLOWFIELD, 2016).

A profundidade também tem influência na necessidade de terra para implementação, os custos de construção, a operação e os custos da etapa de separação após o cultivo. Segundo Craggs *et al.* (2011), a disponibilidade de terra é limitada em muitos países e a operação de lagoas rasas pode não ser economicamente viável, com as lagoas facultativas existentes sendo uma saída para o tratamento de águas residuais.

3.5.2 Velocidade horizontal

A dinâmica vertical determina quanto e em qual frequência a célula da cultura ficará em exposição à luz (DIEHL, 2002). Para minimizar a atenuação da luz, a circulação uniforme é essencial para que todas as células fiquem em exposição a luz em escalas de tempos diferentes, permitindo manter a alta produtividade (RICHMOND; CHENG-WE; ZARMI, 2003). Se a dinâmica permanecer estática ao longo da lagoa, a eficiência

foto-sintética e a produtividade são reduzidas. De acordo com Diehl (2002) a mistura da cultura tem como vantagens evitar a sedimentação celular e proporcionar a homogeneidade de nutrientes.

3.5.3 Tempo de detenção hidráulica

O tempo de detenção hidráulica (TDH) refere-se ao tempo médio em que o efluente e a cultura de microalgas/bactérias permanecem no reator. De acordo com Sutherland *et al.* (2015), o TDH em LAT varia comumente entre 3 e 9 dias e tem impacto nos processos biológicos do sistema. TDH menores que 4 dias, apresentam maior produtividade em área, já TDHs longos (8 a 10 dias) melhoram a remoção de nutrientes e apresentam maior concentração de biomassa (PARK; CRAGGS, 2010; CROMAR; FALLOWFIELD, 1997). Para Garcia, Hernández-Mariné e Mujeriego (2000) as variações sazonais também influenciam na tomada de decisões com relação a escolha do TDH e sua influência na remoção de nutrientes e crescimento da cultura, sendo TDH curto para a primavera/verão e longo para outono/inverno.

O TDH pode variar de acordo com as condições locais, a temperatura, cinética de remoção da DBO e do regime hidráulico (VON SPERLING, 2002). Com a equação 4 podemos observar que o TDH está relacionado com o volume e à vazão da LAT:

$$TDH = \frac{V}{Q} \quad (4)$$

Onde,

V = volume (m³);

Q = vazão média (m³ d⁻¹).

3.5.4 Adição de CO₂

Em relação a remoção de nutrientes e a produção de biomassa, geralmente há redução devido a limitação diurna de carbono, indicada por altos valores de pH na lagoa (geralmente acima de 10), devido à atividade foto-sintética (OSWALD, 1988; GARCIA; HERNÁNDEZ-MARINÉ; MUJERIEGO, 2000; CRAGGS, 2005; KONG *et al.*, 2010; PARK; CRAGGS, 2010). A limitação de carbono no meio pode ocorrer devido à baixa proporção C:N em águas residuais (geralmente 3:1 a 4:1) em comparação a biomassa

algal (geralmente 6:1, variando de 10:1 a 5:1, em função da disponibilidade de nitrogênio) (BENEMANN *et al.*, 1980). Sendo assim, a necessidade de adição de CO₂ durante o cultivo vai depender do efluente a ser utilizado, mais especificamente relacionado à concentração de matéria orgânica encontrada nesse efluente.

Dessa forma, as águas residuárias domésticas, em grande maioria, possuem carbono insuficiente para remover todo o nitrogênio e fósforo por assimilação direta pela biomassa algal, além do fato do aumento gradual do pH da água da LAT acima de 8,5 diminuir bruscamente as taxas de crescimento e a produtividade (WEISSMAN; GOEBEL, 1987; KONG *et al.*, 2010). Entretanto, algumas espécies conseguem utilizar o bicarbonato disponível para crescer (apesar da baixa produtividade) mesmo com pH >10.

A adição de CO₂ no meio de cultura aumenta a disponibilidade de carbono e permite que o pH seja mantido em um nível ideal (pH 7,5-8,5) para algas e bactérias. A produtividade média de biomassa com a presença de águas residuais pode potencialmente dobrar com a adição de CO₂ para 16-20 g m⁻² d (HEUBECK; CRAGGS; SHILTON, 2007; PARK; CRAGGS, 2010). Eisenberg *et al.* (1981) e Benemann (2003) sugerem o aproveitamento de fontes locais de CO₂ através de gases de combustão.

3.5.4.1 Coluna de carbonatação

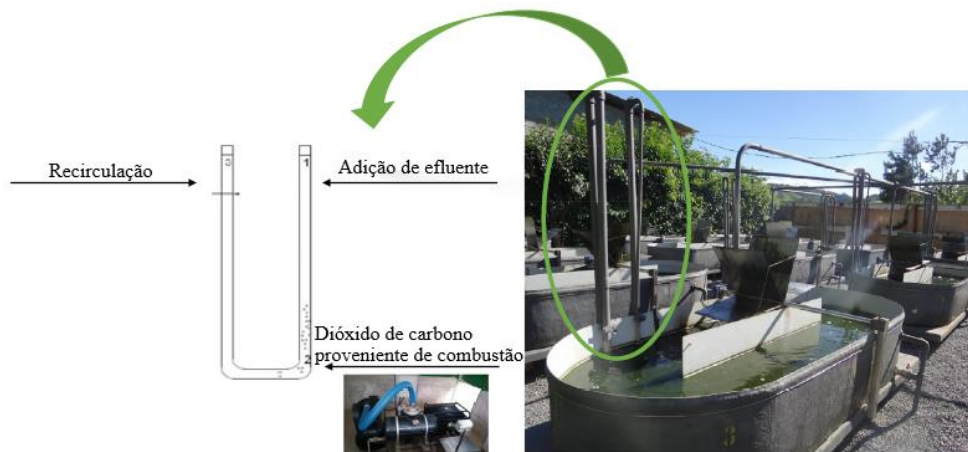
Com a baixa concentração de CO₂ a atmosfera (aproximadamente 400 ppm), para otimizar alta taxa de crescimento das microalgas, recomenda-se a carbonatação com razão > 5% (v v⁻¹). A coluna de carbonatação apresenta a vantagem quanto a transferência de massa, reduzindo os custos através da menor demanda de CO₂ para suprir o sistema (PUTT *et al.*, 2011).

Putt *et al.* (2011) investigaram a eficiência da transferência de CO₂ em uma coluna de carbonatação (Figura 9) com 3,1 m de altura conectada a um *raceway* de 1,1 m², profundidade de 0,15 cm acionado por uma roda de pás e pH entre 9 e 10. Estimou-se teoricamente a utilização de 90% da coluna com produtividade de 20 g m⁻² d. Mostrando maior eficiência em relação ao borbulhamento do gás na profundidade da lagoa, o que resultou em 37% de eficiência. Entretanto, não foram investigados os custos de bombeamento associados ao custo de compressão de gás com a coluna de carbonatação.

De Godos *et al.* (2013) relata que provavelmente a energia requerida para a coluna é mais alta em relação aos fossos de adição de CO₂ devido a hidrostática a ser superada

para pressurização do gás e bombeamento. Também é provável que as perdas de energia por atrito do fluido e altos níveis de turbulência ocorram com maiores frequência, devido ao pequeno diâmetro da coluna.

Figura 9 – Funcionamento da coluna de carbonatação.



Fonte: Adaptado de Couto, Calijuri e Assemany (2020).

3.5.4.2 Fosso de adição de CO₂

Em LATs com adição de CO₂, o fornecimento do gás comumente também pode ocorrer através de um fosso (coluna mais profunda) dentro da lagoa (Figura 10). Resultando em maior tempo de contato entre o meio de cultura e o CO₂, aumentando a transferência de gás.

Figura 10 – Desenho esquemático do fosso de adição de CO₂.



Fonte: Adaptado de Craggs, Lundquist e Benemann (2012).

Para aumentar o tempo de retenção das bolhas na LAT, Lundquist *et al.* (2010) construíram um fosso com 1 metro de profundidade para injeção de gás. Os autores

relataram que ao colocar o difusor abaixo do fluxo descendente, o tempo de contato efetivo foi otimizado. Para bolhas com velocidade de subida em $0,3 \text{ m s}^{-1}$ e velocidade descendente da água de $0,25 \text{ m s}^{-1}$, o tempo de contato do gás e da água foi aumentado de 1 segundo para 20 segundos.

3.5.5 Transferência de carbono

A eficiência da transferência de gás é fundamental para reduzir ao mínimo o tamanho dos fossos. Weissman, Goebel e Benemann (1988) relataram que de 80 a 90% de transferência de gás foi alcançada com um fosso de 91 cm de profundidade com o difusor localizado a 88 cm em um sistema de co-corrente. Segundo os estudos, o aumento da profundidade teve pouco impacto na transferência de CO_2 para o meio líquido e alterar a posição do difusor para 58 cm não ocasionou grande impacto na eficiência do sistema, podendo utilizar um poço mais raso e ocasionalmente reduzindo a perda de carga. A adição de CO_2 deve ser calculada e dimensionada devido ao risco da eliminação de gases para a atmosfera devido a diferença de concentrações entre os meios (PUTT *et al.*, 2011).

Estudos realizados por De Godos *et al.* (2013) mostraram 94% de eficiência a uma LAT com profundidade de 0,2 m, 50 m de comprimento e 1 m de largura, com fornecimento de 100 L min^{-1} de gás de combustão a 10,6% de CO_2 .

Mendoza *et al.* (2013) relataram que para fornecer o maior tempo de contato e a máxima transferência de gás, a velocidade de circulação do fluido precisaria corresponder à velocidade de subida do gás, de modo que ele suba lentamente ou permaneça estacionário.

3.6 Produção de biomassa em LAT

A produtividade da biomassa algal pode ser descrita como a massa de algas produzidas por dia em função da área ou do volume de cultivo (Tabela 1). Também podendo ser chamada de rendimento, embora, para entender o rendimento é necessário levar em consideração os parâmetros de separação, além dos parâmetros de crescimento. Buchanan *et al.* (2018) cita a área iluminada como principal fator para controlar a produtividade da cultura, com a mesma produtividade por unidade de área sendo

alcançada com qualquer combinação de volume, profundidade e concentração, desde que estas variáveis mantenham a eficiência fotossintética.

Tabela 1 – Produção comercial e tratamento de efluentes em diferentes localidades em LATs.

Tipo de produção	Local	Espécie	Produtividade por área (g (m² d)⁻¹)	Volume total da LAT (m³)	Referências
Comercial	Hawaii	<i>Tetraselmis suecica</i>	40,0	-	Sheehan <i>et al.</i> (1998)
	Hawaii	<i>Cyclotella cryptlm</i>	29,7	-	Sheehan <i>et al.</i> (1998)
	Hawaii	<i>Platymonas</i> sp.	26,0	5,8	Sheehan <i>et al.</i> (1998)
	Hawaii	<i>Cyclotella cryptlm</i>	30,0	1,1	Sheehan <i>et al.</i> (1998)
	Hawaii	<i>Tetraselmis suecica</i>	37,5	1,1	Sheehan <i>et al.</i> (1998)
	Novo México	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	14,0	22,5	Weissman e Goebel (1988)
	Novo México	<i>Gilorelln</i> sp.	21,0	22,5	Weissman e Goebel (1988)
	Israel	<i>Anabena slomensis</i>	12,9	0,3	Richmond (2004)

Tratamento de efluentes	Califórnia	Cultura mista de algas	18,4	-	Benemann, Tillett e Weissman (1987)
	Israel	<i>Scenedesmus</i> sp.	33,0	-	Shelef (1982)
	Israel	<i>Micractinium</i> sp.	35,0	-	Shelef (1982)
	Nova Zelândia	<i>Actinastrum</i> sp. <i>Coelostrum</i> sp.	25,0	8,0	Park e Craggs (2010)
	Filipinas	<i>Pediastrum</i> sp.	15,3	-	Oswald (1987)
	Escócia	<i>Chlorella</i> sp.	18,0	-	Cromar, Fallowfield e Martins (1996)
	Espanha	<i>Ankistrodesmus</i> sp.	12,7-14,8	-	Garcia <i>et al.</i> (2006)
	Kuwait		15,0	-	Banat <i>et al.</i> (1990)

Fonte: Adaptado de Júnior (2011).

3.7 Nutrientes

No habitat natural as algas conseguem nutrientes para suas funções metabólicas em função das variáveis ambientais. A seguir há a relação entre macronutrientes fundamentais e suas funções metabólicas (GROBBELAAR; BORNMAN, 2004):

Carbono e nitrogênio → Componentes estruturais de macromoléculas;

Fósforo → Processos energéticos (ATP);

Potássio → regulação osmótica;

Magnésio → Parte da molécula de clorofila;

Enxofre → Participa da estruturação de proteínas, como a cisteína;

Ferro → Participação na biossíntese da clorofila.

Com a biomassa algal composta de $C_{106}H_{181}O_{45}N_{16}P$ (composição elementar), a adição de proporções em N:P 7,3:1 é requerida para o cultivo em LATs (CRAGGS, 2005). Fernández *et al.* (2001) relataram que em sistemas comerciais, usualmente os nutrientes são fornecidos em excesso para não limitar o crescimento. A razão entre nitrogênio e fósforo pode variar de 4:1 a 40:1 dependendo das espécies do meio de cultura e a disponibilidade de nutrientes, entretanto, mesmo em baixas relações é possível encontrar altas produtividades em lagoas de alta taxa com efluente como meio de cultivo (CRAGGS *et al.*, 2011). Sendo assim, as microalgas podem apresentar diferentes relações de N:P em função da disponibilidade de nutrientes no meio de cultura.

A limitação de nitrogênio ou fósforo afeta negativamente a produtividade algal, segundo os parâmetros da eficiência fotossintética sob baixa luz. A taxa máxima de fotossíntese, assim como a capacidade de uma célula de dissipar o excesso de energia do fóton para evitar danos por fotodinâmica mostram que a limitação de nutrientes pode atenuar a atividade fotossintética e, inversamente, a dissipação da energia pode aumentar com o aumento da limitação de N ou P (KIRK, 1994; RODRIGUEZ-ROMAN; IGLESIAS-PRIETO, 2005; PETROU *et al.*, 2008; PALMER *et al.*, 2013).

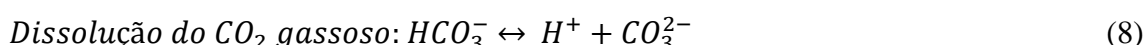
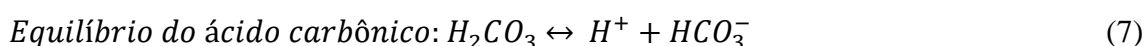
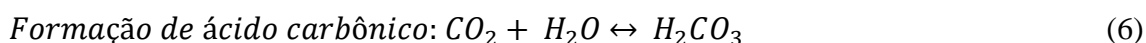
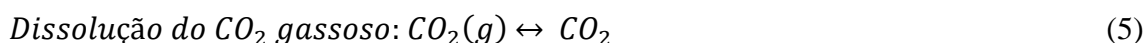
3.7.1 Dióxido de carbono

A adição de CO_2 ao tratamento de águas residuais em uma LAT aumenta a disponibilidade de carbono para o cultivo autotrófico da cultura e ao mesmo tempo tem a função de controlar o pH, além de contribuir para evitar a perda de nutrientes por processos físico-químicos, como a volatilização da amônia e a precipitação do fosfato. Dessa forma, os nutrientes podem ser recuperados por meio da assimilação pelas algas durante o crescimento de biomassa (PARK; CRAGGS, 2010).

Estudos realizados por Benemann (2008) mostraram que emissões gasosas residuais, como gases de combustão de usinas, podem ser integradas como fonte de CO_2 para as algas em grande escala. Em um sistema fechado de produção energética, estações de tratamento de efluentes com produção de biogás em digestores anaeróbios, similar ao

que acontece no reator UASB, através da biomassa para geração de energia, produzem também CO_2 proveniente da queima que pode ser utilizado em LATs.

Com a técnica de aeração introduzida pela primeira vez por Warburg (1919) usando ar enriquecido com dióxido de carbono, a dissolução do CO_2 pode assumir três diferentes formas dependendo da variação do pH segundo os balanços:



O carbono inorgânico dissolvido (CID) pode ser encontrado na forma de CO_2 , HCO_3^- ou CO_3^{2-} , variando de acordo com o pH e a temperatura do meio de cultivo. Devido o aumento da transferência de dióxido de carbono para a fase líquida, o pH do meio diminui, entretanto, se ocorrer o aumento da temperatura a taxa de transferência sofre declínio.

As algas absorvem preferencialmente o CO_2 por difusão passiva, em comparação ao HCO_3^- que depende do transporte ativo. Entretanto, nas LATs operadas com águas residuais o carbono encontrado está geralmente na forma HCO_3^- e CO_3^{2-} . Segundo Low-Décarie, Bell e Fussmann (2015), nestas condições as algas necessitam de mecanismos de concentração metabólicos para auxiliar na absorção do carbono.

3.7.2 Carbono orgânico

Algumas espécies de algas são capazes de crescer em ambientes escuros, assimilando o carbono orgânico dissolvido (COD) como fonte de energia e carbono (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2011). BUMBAK *et al.* (2011) relataram a heterotrofia como característica para a eliminação da necessidade de luz durante o cultivo, permitindo o uso de reatores inovadores quanto ao design. Entretanto, estudos realizados por Lowrey, Brooks e McGinn (2015) mostraram que poucas espécies conseguiram crescer nestas condições quando não foi utilizado efluente como meio de cultura. Além disso, os autores relataram que este tipo de cultivo apresenta desvantagem com relação aos custos, já que seria necessária a adição de fontes orgânicas, como a glicose. A diminuição da pigmentação e da produção fotoquímica das células de algas devido as reações escuras

também levariam a problemas com a produtividade da biomassa, assim como a produção de CO₂ a partir da respiração do carbono orgânico durante as fases de crescimento (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; PEREZ-GARCIA *et al.*, 2011).

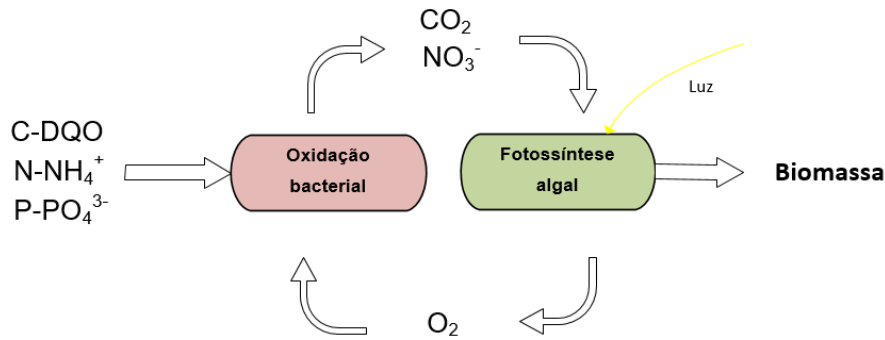
Embora o COD possa ter um efeito ecossistêmico negativo quando liberado em cursos d'água, o COD em águas residuais também pode afetar a interação das algas e as bactérias com o meio de cultura, podendo diminuir a quantidade de biomassa produzida (FARJALLA *et al.*, 2009; HE *et al.*, 2013; LIN; WU, 2015). Segundo He *et al.* (2013), quando as concentrações de COD excedem 231 mg L⁻¹ foi demonstrado que o crescimento algal é inibido pelas bactérias. Além disso, uma concentração elevada de COD pode estar associada com a maior dificuldade de penetração de radiação no meio de cultivo.

Durante o cultivo, as bactérias são capazes de excretar substâncias em pouca concentração, proporcionando o aumento do crescimento algal, enquanto quando liberadas em grandes quantidades resultam na inibição do crescimento (MAYALI; DOUCETTE, 2002). Além disso, o consórcio entre microalgas e bactérias traz competição por nutrientes. Estudos realizados por Kim *et al.* (2007) mostraram que bactérias *Myxobacter* e *Cytophaga* podem liberar enzimas que dissolvem a celulose e são capazes de digerir a parede celular da alga, levando a destruição da célula.

3.7.3 Remoção de poluentes em LAT

Várias espécies de algas são capazes de crescer fotoautotroficamente usando carbono inorgânico e luz solar para fonte de carbono e energia, heterotroficamente utilizando os compostos orgânicos como fontes de carbono e energia e mixotroficamente ao aliar o metabolismo fototrófico e heterotrófico (BARSANTI; GUALTERI, 2006). Assim como, há a presença de interações sinérgicas entre organismos heterotróficos e autotróficos aeróbicos por meio da troca de substratos (Figura 11).

Figura 11 – Princípio da oxigenação fotossintética.



Fonte: Adaptado de Munoz *et al.* (2004).

As interações metabólicas ajudam a biodegradação de poluentes orgânicos reduzindo o uso de energia, seus impactos associados e riscos associados a patógenos perigosos. (MUNOZ *et al.*, 2004).

Sob condições de cultivo comumente encontradas em LATs, a assimilação e mecanismos abióticos podem trazer eficiência de remoção entre 90-98% para o nitrogênio e 90-95% para o fósforo (DE GODOS *et al.*, 2010).

3.7.3.1 Nitrogênio

A remoção de nitrogênio pode ser obtida através de mecanismos como: nitrificação, desnitrificação, assimilação, volatilização e sedimentação. A composição de N tipicamente encontrada em uma célula de alga cultivada em LAT e alimentada com efluente residual é de 8%, conseqüentemente prevalecendo a remoção indireta do nitrogênio (CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012; GARCIA; MUJERIEGO; HERNANDEZ-MARINE, 2000).

A remoção indireta de nitrogênio, através das condições de cultivo, acontece pela remoção de $NH_4^+ - N$ sob elevados níveis de pH. Em contrapartida, a remoção direta de nitrogênio ocorre através da assimilação de nitrogênio na biomassa algal (GARCIA; MUJERIEGO; HERNANDEZ-MARINE, 2000). Em LATs a alta eficiência da remoção de nitrogênio pode acontecer de duas formas: aumento da nitrificação e posterior assimilação pela microalga, assim como pela volatilização da amônia (MAYO; MUTAMBA, 2004).

O primeiro passo de oxidação durante a nitrificação converte o íon amônio em nitrito, seguido pela oxidação do nitrito em nitrato. A nitrificação acontece por várias espécies de bactérias autotróficas envolvidas no tratamento de efluentes. Os gêneros mais comuns responsáveis pela oxidação do amônio (Equação 9) em nitrito e o segundo passo de oxidação em nitrato (Equação 10) são *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, respectivamente (METCALF; EDDY, 2003). O processo de oxidação da amônia requer aproximadamente 4,57 g de O₂ por grama de N, representado estequiometricamente pela equação 11. NURDOGAN (1989) mostrou que eficiências de remoção da amônia de 85% em LAT foi alcançada operando o sistema em cinco dias de TDH.

Oxidação a nitrito:



Oxidação a nitrato:



Reação total de oxidação:



A volatilização é um mecanismo indireto que contribui para a remoção de amônia. Nas lagoas com sistemas de tratamento de águas residuais, a fotossíntese diurna acarreta o rápido consumo de CO₂ e de HCO₃⁻ aumentando o pH para >11 (PARK; CRAGGS, 2010).

Enquanto o pH se aproxima de 9,4 a 20 °C de temperatura, as concentrações do gás de amônia (NH₃) e íons de amônia (NH₄⁺) se igualam, já em pH >9,4, a concentração de gás de amônia é dominante (MAYO; MUTAMBA, 2005). O gás amônia, representado como NH₃ pode volatilizar do meio de cultura a temperaturas mais altas e pH elevado (PARK; CRAGGS, 2010; CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012). Cerca de 90% de NH₄⁺ pode estar presente no meio durante a estação do verão com pH 10,5 e 20 °C, enquanto apenas 20% é volátil durante o inverno com pH 9 e 10 °C (NURDOGAN, 1989). Com a injeção de CO₂ com alto TDH e carbono limitado, haverá o aumento do crescimento de biomassa de algal e conseqüentemente irá reduzir o pH a 8, criando um ambiente adequado para o processo de nitrificação (PARK; CRAGGS, 2010; CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012).

A remoção direta do nitrogênio inclui a assimilação ou absorção por células de bactérias e algas (SHIN; POLPRASERT, 1988). Através da preferência destes organismos a NH_4^+ em relação a NO_3^- , a remoção da amônia por volatilização acontece antes da assimilação dos nitratos (MAYO; MUTAMBA, 2005). Este processo ocorre, pois, a utilização do NO_3^- necessita de mais energia e disponibilidade de nitrato redutase (NURDOGAN, 1989). Por sua vez, a remoção do nitrogênio orgânico pode ocorrer através da sedimentação e posterior absorção pela cultura do meio (SHIN; POLPRASERT, 1988).

3.7.3.2 Fósforo

Assim como o nitrogênio, a presença de ortofosfatos no meio de cultura é essencial para o crescimento algal e, portanto, deve ser removida durante o processo de tratamento de águas residuais para evitar a eutrofização nos corpos d'água receptores (POWELL *et al.*, 2009). A concentração de fósforo nas células das algas geralmente se encontra na faixa de 0,35-1%, podendo chegar a 3,16% quando ocorre a absorção de luxo (POWELL *et al.*, 2008; CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012). Baixos teores de fósforo são observados quando a assimilação é negativamente afetada devido a variação sazonal da produtividade durante os meses de inverno ou quando o fósforo está limitante (CRAGGS; SUTHERLAND; CAMPBELL, 2012).

A remoção do fósforo de águas residuais pode ocorrer por precipitação resultante da adição química de bicarbonato, níveis elevados de pH (acima de 10), assim como por assimilação (POWELL *et al.*, 2008). A precipitação química pode ocasionar o aumento dos custos de operação das LATs e limitar a recuperação de fósforo devido a produção de lodo que requer descarte, mostrando ser uma técnica desfavorável para implementação (POWELL *et al.*, 2009). Naturalmente a precipitação acontece durante a fase de crescimento da cultura da lagoa, devido ao consumo de dióxido de carbono e alcalinidade resultando em níveis elevados de pH, promovendo um processo conhecido como autofloculação (NURDOGAN, 1989).

Segundo POWELL *et al.* (2008), a autofloculação é resultado da formação de complexos de fosfato com cálcio, magnésio ou ferro. O processo torna-se limitado diante da disponibilidade de cátions divalentes nas águas residuais, podendo ser remediado com adição de cal (NURDOGAN, 1989). NURDOGAN (1989) mensurou a remoção de

ortofosfato em até 99% em LAT de 1000 m² operanda por 5 dias de TDH, adicionando 60 mg L⁻¹ de CaO. Após a autofloculação, a sedimentação da biomassa seria o próximo passo para a recuperação do fósforo.

A disponibilidade do fósforo para assimilação pelas células das algas pode ser encontrada na forma de ortofosfatos, necessário para o desenvolvimento de constituintes celulares como os fosfolipídios, nucleotídeos e ácidos nucleicos (POWELL *et al.*, 2008; METCALF; EDDY, 2003). Outras formas de fósforo presentes em águas residuais incluem compostos orgânicos de fósforo e polifosfatos, disponíveis para hidrólise em ortofosfato (NURDOGAN, 1989).

Quando o fosfato é disponibilizado em um ambiente com fósforo limitante (P limitado em 0,2 mg L⁻¹), as células da cultura algal armazenam o fósforo na forma de polifosfatos por um processo chamado absorção de luxo. Os polifosfatos estão presentes em duas formas: polifosfatos solúveis em ácido (PSA), ativamente presentes no metabolismo da alga; polifosfatos insolúveis em ácido (PIA), forma de armazenamento pela biomassa quando as concentrações de fosfato se encontram limitadas. A acumulação e o consumo de ambas as formas de polifosfatos acontecem de maneira proporcional ao aumento da temperatura. A absorção de luxo é acelerada quando as águas residuais contêm concentrações de fósforo entre 15 e 30 mg L⁻¹.

3.8 Eficiência de remoção de nutrientes

O maior valor observado na Tabela 2 para remoção de matéria orgânica foi de 94% em um sistema de LAT com efluente de um digestor anaeróbio com adição de CO₂ para prevenir altos valores de pH (>9,0), prejudicial para a degradação da matéria orgânica. Segundo el Hamouri *et al.* (1994), o valor de 81,8% de remoção é a faixa típica encontrada em LATs. Craggs, Sutherland e Campbell (2012) relataram um valor similar ao avaliar uma larga escala de cultivo (1,25 ha) com efluente primário. As algas dos gêneros *Achnanthese* e *Nitzschia* foram estudadas por de Godos *et al.* (2009) relatando a queda no desempenho da remoção de DQO atrelada ao aumento da carga orgânica aplicada, predominâncias das algas (67% no total) e alterações das condições climáticas de cultivo.

Osundeko (2014) compilou na Tabela 3 a seguir as concentrações de nitrogênio e fósforo em efluentes municipais, industriais e provenientes da agricultura mostrando a quantidade de nitrogênio e fósforo, assim como suas eficiências de remoção.

Tabela 2 – Remoção de DBO solúvel, fósforo total, nitrogênio amoniacal em LATs com pré e pós tratamento.

variável	Tratamento prévio	Eficiência (%)	Eficiência LAT (%)	Tratamento posterior	Eficiência (%)	Referências
DBO _{5f}	Lagoa primária	-	54,5	Lagoa de maturação	16	Craggs <i>et al.</i> (2003)
	Decantador primário	34,1	81,8	-	-	El Hamouri <i>et al.</i> (1994)
	Digestor anaeróbio	-	95,8	Decantador	22,9	Craggs, Sutherland e Campbell (2012)
	Decantador	-	84-92	-	-	Craggs, Sutherland e Campbell (2012)
P _t	Lagoa primária	-	15,3	Lagoa de maturação	13,3	Craggs <i>et al.</i> (2003)
				Decantador	33,3	Oswald (1990)
	Lagoa facultativa	7,1	7,7	Lagoa de maturação	37,5	Oswald (1990)
N-NH ₄	Lagoa primária	-	91	Lagoa de maturação	27,8	Craggs <i>et al.</i> (2003)
	Decantador	20	61,9	-	-	El Hamouri <i>et al.</i> (1994)

Fonte: Adaptado de Santiago (2013).

Tabela 3 – Espécies de algas cultivadas em sistemas abertos e variados tipos de efluente.

Tipo de efluente	Espécie	N (mg L ⁻¹)	P (mg L ⁻¹)	Remoção de N (%)	Remoção de P (%)	Referências
Esgoto municipal	nd	40-50	7-8	-	-	Ip <i>et al.</i> (1982)
Esgoto municipal	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	128,6	120,6	83	14,45	Kong <i>et al.</i> (2010)
Esgoto municipal	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	128,6	120,6	55	15,4	Kong <i>et al.</i> (2010)
Esgoto municipal - tratamento secundário	<i>Scenedesmus obliquus</i>	27,4 ^a	11,8	94% ^e	98% ^e	Orpez <i>et al.</i> (2009)
Esgoto municipal - tratamento secundário	<i>Botryococcus braunii</i>	11,9	11,5	nd	Nd	Orpez <i>et al.</i> (2009)
Esgoto municipal - tratamento primário + CO ₂	Mistura de: <i>Chlorella</i> sp., <i>Micractinium</i> sp., <i>Actinastrum</i> sp.	51	2,1	99 ⁱ	99 ⁱ	Woertz <i>et al.</i> (2009)
Esgoto municipal - autoclavado	<i>Chlorella</i> sp.	91 ^a	212	nd	Nd	Zhou <i>et al.</i> (2011)
Esgoto municipal - autoclavado	<i>Hindakia</i> sp.	91 ^a	212	nd	Nd	Zhou <i>et al.</i> (2011)
Esgoto municipal - autoclavado	<i>Scenedesmus</i> sp.	91 ^a	212	nd	Nd	Zhou <i>et al.</i> (2011)
Esgoto municipal – pré tratado ^k	<i>Chlorella</i> sp.	18,9	1,7	92	86	An <i>et al.</i> (2003)

Suinocultura com alto N-NO ₃	<i>Botryococcus braunii</i>	836	40	80	82,5	An <i>et al.</i> (2003)
Suinocultura – urina fermentada	<i>Scenedesmus</i> sp.	86,4	20,2	nd	Nd	Kim <i>et al.</i> (2007)
Agricultura – esterco digerido anaerobicamente	Mistura de: <i>Microspora willeana</i> , <i>Ulothrix</i> sp.	225	24,7	39	51	Wilkie e Mulbry (2002)
Agricultura – esterco digerido anaerobicamente (diluído 20x)	<i>Chlorella</i> sp.	2232 ^a _p	249,7 _p	100	71,6	Wang <i>et al.</i> (2010)
Efluente agrícola – 25% diluído	Mistura de: <i>Chlorella</i> sp., <i>Micractinium</i> sp., <i>Actinastrum</i> sp.	30,5 ^q	2,6	96	>99	Woertz <i>et al.</i> (2009)
Industrial (fábrica de carpetes) - sem tratamento	<i>Botryococcus braunii</i>	17,58-25,85 ^a	5,47-13,83	nd	Nd	Chinnasamy <i>et al.</i> (2010)
Industrial (fábrica de carpetes) - sem tratamento	<i>Chlorella saccharophila</i>	17,58-25,85 ^a	5,47-13,83	nd	Nd	Chinnasamy <i>et al.</i> (2010)
Industrial (fábrica de carpetes) - sem tratamento	15 espécies nativas de efluente isoladas	17,58-25,85 ^a	5,47-13,83	99,7 ^r	99,1 ^r	Chinnasamy <i>et al.</i> (2010)

Nd: Não determinado; ^a: Mensurado na forma de amônia; ^r: Cultivo com borbulhamento de ar e temperatura em 25 °C; ^q: Estimado pela produtividade lipídica; _p: Valor após diluição; ⁱ: Crescimento durante 4 dias com adição de CO₂; ^e: Cultivo a 20 °C de temperatura sem agitação.

Fonte: Adaptado de Osundeko (2014).

A medição da demanda química de oxigênio (DQO) determina a quantidade de oxidante químico que é necessário para reagir com os compostos orgânicos em uma quantidade de efluente residual pré determinada, ou seja, a quantidade de carbono orgânico total contido. O oxidante é expresso como a demanda equivalente de oxigênio presente no efluente (APHA, 2005). A Tabela 4 a seguir traz a eficiência de remoção de DQO de estudos sobre sistemas de cultivo e tratamento de efluente com a presença de algas.

Tabela 4 – Eficiência de remoção de DQO em diferentes sistemas de tratamento de efluente com cultura de algas.

Sistema	Eficiência (%)	Referências
Fotobiorreator	73	Mohammed <i>et al.</i> (2014)
Lagoa facultativa	55-70	Mara <i>et al.</i> (1998)
Lagoa facultativa	64-73	Mara (1996)
Lagoa de maturação	71-85	De Oliveira <i>et al.</i> (1996)
Fotobiorreator	90	Humenik e Hanna-Jr (1971)
Lagoa de maturação	7-25	Von Sperling e Mascarenhas (2005)
Lagoa facultativa*	7-17	Soler <i>et al.</i> (1995)
Lagoa facultativa*	19-37	Soler <i>et al.</i> (1995)
Lagoa facultativa	55	Mendes <i>et al.</i> (1995)
Lagoa de alta taxa	92	Shelef, (1982)
Lagoa facultativa	61-67	Schetrite (1995)
Lagoa facultativa	93	Kumar e Goyal (2010)

*Lagoas em locais diferentes.

Fonte: Adaptado de: Mohammed e Mota (2018).

3.9 Sistema de colheita, concentração e secagem

Após o sistema de cultivo, a microalga poderá ser separada e seca ou utilizada como biomassa úmida, a depender da rota, para fins como produção energética, aquicultura ou suplementação animal. A dificuldade em recuperar a biomassa algal ocorre em função do seu pequeno tamanho celular (<20 µm), densidade semelhante à da água (1,08–1,13 g mL⁻¹) e carga superficial fortemente negativa (MORAINE *et al.*, 1979; LAVOIE; DE LA NOÛE, 1987).

De maneira geral, os métodos de separação podem ser químicos ou mecânicos, na Tabela 5 são apresentadas as eficiências de separação de cada tipo de processo. Em seguida a biomassa pode secar naturalmente ao sol ou em secador, com a finalidade de retirar a umidade residual para a concentração máxima da biomassa (BENEMANN; OSWALD, 1996).

Tabela 5 – Eficiência de separação da biomassa.

Técnica	Eficiência (%)	Referências
Centrifugação	>90	Singh e Patidar (2018)
Auto-floculação	>98	Pérez-López <i>et al.</i> (2014)
Eletro-floculação	80-95	Chen, Ma e Liu (2011)
Bio-floculação	88	Wan <i>et al.</i> (2015)
Flotação por ar dissolvido (com sulfato de alumínio)	60	Henderson, Parsons e Jefferson (2009)
Flotação por ar dispersado (CTAB)	90	Phoochinda e White, (2003)

Fonte: Do autor (2022).

Estudos descritos na literatura trazem que a técnica de separação mais adequada depende do produto da biomassa algal (CHRISTENSON; SIMS, 2011; GERARDO *et al.*, 2015; HENDERSON; PARSONS; JEFFERSON, 2008; Shen *et al.*, 2009; UDUMAN

et al., 2010). As maiores concentrações referentes a sólidos podem ser alcançadas com a filtração e centrifugação, entretanto, são exigidos altos custos energéticos. Técnicas promissoras (Tabela 6) como flotação e sedimentação são técnicas possuem baixo custo e *scale up*, mas requerem técnicas de concentração anteriores para aumentar os sólidos finais (BARROS *et al.*, 2015).

Tabela 6 – Caracterização dos processos de separação.

Técnica	Concentração de sólidos (%v v⁻¹)	Energia consumida (kWh m⁻³)	Dependência da espécie	Scale up	Custos
Centrifugação	2-22	0,7-8	Baixa	Baixa	Alta
Filtração	5-27	0,5-6	Alta	Baixa	Alta
Sedimentação	0,5-3	0,1-0,3	Média	Alta	Baixa
Flotação	2,5-7	0,015-1,5	Média	Alta	Baixa
Eletrocoagulação	3-5	0,8-1,5	Baixa	Baixa	Média

Fonte: Adaptado de Barros *et al.* (2015).

Após o cultivo em LAT, Garcia, Hernández-Mariné e Mujeriego (2000) citam a sedimentação simples por gravidade como uma opção promissora para alcançar um efluente tratado de alta qualidade no que se refere a remoção de nutrientes e recuperação da biomassa para produção de biocombustíveis, devido a maioria das espécies presentes no crescimento efluente de águas residuais (*Scenedesmus* sp., *Dictyosphaerium* sp., *Coelastrum* sp.) formarem grandes colônias com tamanhos entre 50-200 µm. A Tabela 7 apresenta as vantagens e desvantagens de variadas técnicas de separação de biomassa.

Tabela 7 – Vantagens e desvantagens dos processos de separação.

Técnica	Vantagens	Desvantagens
Coagulação/floculação	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica rápida e simples • Aplicável para largas escala 	<ul style="list-style-type: none"> • Produtos químicos caros • Alta dependência do pH

	<ul style="list-style-type: none"> • Menor dano à célula • Aplicado a várias espécies • Menor consumo energético 	<ul style="list-style-type: none"> • Dificuldade de separar o coagulante da biomassa • Eficiência dependente do coagulante
Flotação	<ul style="list-style-type: none"> • Aplicável em largas escalas • Baixo custo e baixo espaço necessário 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilidade de contaminação mineral • Necessidade de surfactantes • Alto custo do processo por ozônio
Eletro-floculação	<ul style="list-style-type: none"> • Baixo tempo de operação • Aplicável para todas as espécies de algas • Não requer reagentes químicos 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessidade de eletrodos metálicos • Alto custo de energia e equipamentos • Contaminação por metais
Filtração	<ul style="list-style-type: none"> • Alta eficiência de recuperação • Não requer reagentes químicos • Baixo consumo energético • Reciclo de água 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica lenta, requer pressão ou vácuo • Dependente do tamanho da célula • Alto consumo de energia pela filtragem a vácuo
Centrifugação	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica rápida • Alta eficiência de recuperação • Preferencialmente para escala laboratorial • Aplicável a todas as espécies de microalgas 	<ul style="list-style-type: none"> • Alto custo de equipamento e energia • Alto custo de operação e manutenção • Adequado para produtos com alto valor agregado • Risco de destruição da célula

Fonte: Adaptado de Singh e Patidar (2018).

A Formação de flocos e grânulos como formas dominantes da biomassa alga/bactéria foi observada por Arcila e Buitrón (2016), constituídas em grande parte por diatomáceas, microalgas filamentosas verdes e bactérias. Os autores identificaram, em LAT com TDH de 10 dias, uma aglomeração de diatomáceas e bactérias contribuindo para um crescimento radial de microalgas filamentosas. De acordo com Bahulikar e Kroth (2007), a estrutura granular pode estar associada a geração de substâncias poliméricas

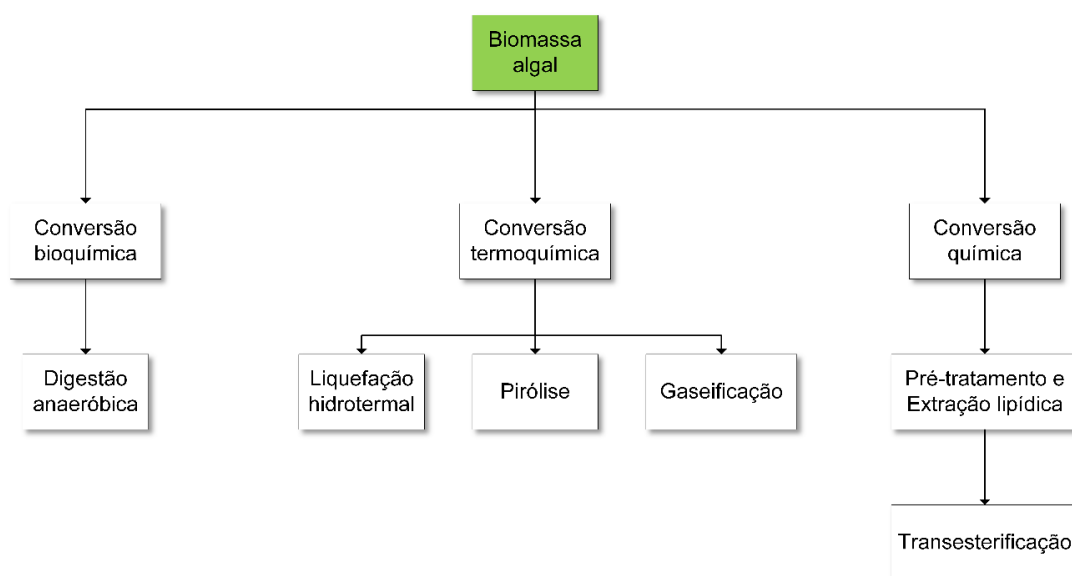
extracelulares. Já em TDH de 6 dias, ocorreu uma diminuição na morfologia granular, assim como a mudança da coloração da cultura de verde para verde acastanhado.

Durante o processo de biofloculação, a agregação das células de bactérias e células cria grandes flocos e se estabilizam por gravidade, sem o uso de flocculantes metálicos, químicos ou alteração do pH do meio de cultura (VANDAMME; FOURBERT; MUYLAERT, 2013).

3.10 Biomassa algal para biocombustíveis

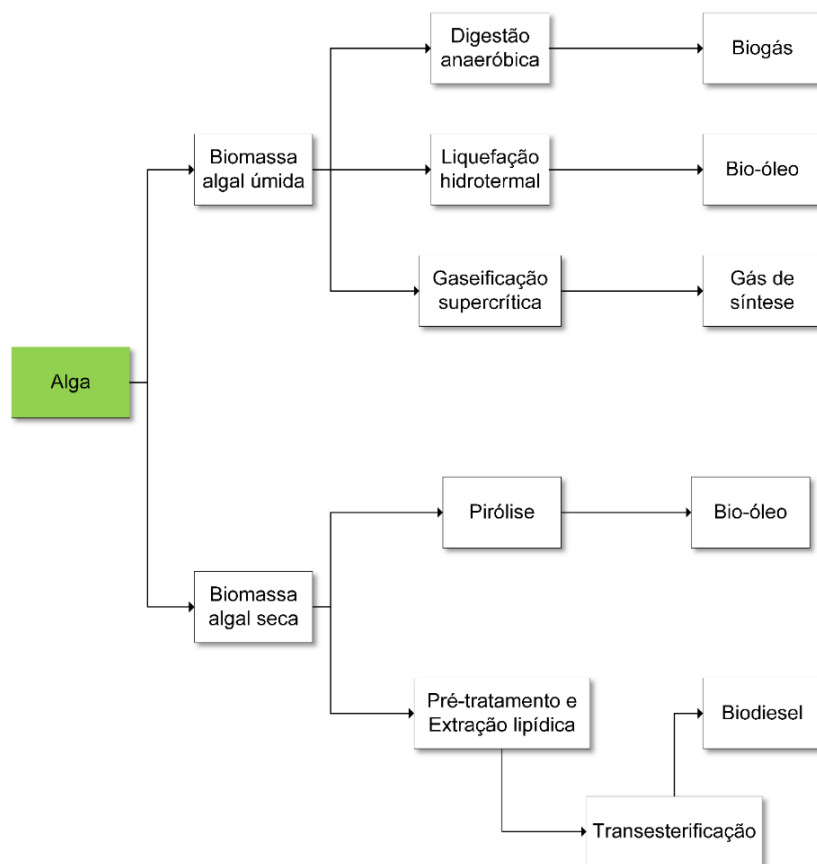
A biomassa algal pode ser convertida em biocombustíveis através de processos químicos, bioquímicos ou termoquímicos (Figura 12). Em função da composição bioquímica da biomassa e o teor de água (Figura 13), o processo de conversão leva em consideração os aspectos econômicos, ambientais, eficiência e limitação de cada rota (CRAGGS; LUNDQUIST; BENEMANN, 2013). A conversão química inclui a transesterificação da fração lipídica proveniente da alga em biodiesel. Com a conversão bioquímica, a digestão anaeróbica da biomassa produz o biogás. A conversão termoquímica compreende a processos termais dos componentes orgânicos das algas em combustíveis líquidos ou gasosos, podendo ser dividida em: liquefação hidrotérmica, pirólise e gaseificação (AMIN, 2009; BRENNAN; OWENDE, 2010).

Figura 12 – Rotas de conversão para os biocombustíveis.



Fonte: Adaptado de Raheem *et al.* (2015).

Figura 13 – Rotas da biomassa para os biocombustíveis em base úmida e seca.



Fonte: Adaptado de Allen *et al.* (2018).

3.10.1 Conversão da biomassa úmida

3.10.1.1 Produção de óleo por liquefação hidrotermal

A liquefação hidrotérmica (LHT) compreende o processo de conversão termoquímica da biomassa em meio aquoso com alta temperatura e pressão, assim como o tempo necessário para a quebra da estrutura bio-polimérica das células em componentes lipídicos (ELLIOTT *et al.*, 2015)

Neste processo, a faixa de temperatura da água varia entre 200 e 374 °C, sob uma pressão de aproximadamente 250 bar para manter o estado líquido. Devido a constante dielétrica maior e a densidade menor, acontece decomposições e reações de polimerização dando origem a formação do bio-óleo (JAZRAWI *et al.*, 2013). Além da LHT, em função dos produtos formados e a umidade da biomassa há outros processos

como a carbonização hidrotérmica (CHT) e a gaseificação hidrotérmica (GHT) (BARREIRO *et al.*, 2013).

De acordo com Guo *et al.* (2015), a principal e mais importante variável do processo LHT é a temperatura, ligada diretamente com as reações, traz segurança e economia para a operação em escala industrial. Os autores também destacam a importância do tempo de reação, adequando-o para a conversão máxima do bio-óleo. Tempos curtos de reação afetam o rendimento do processo pois não ocorre em totalidade a decomposição e despolimerização das células de alga em moléculas menores. Em tempos elevados, ocorre a formação de gases e produtos aquosos, diminuindo o rendimento do bio-óleo. A Tabela 8 a mostra os rendimentos do processo LHT sob condições de reações em 320-370 °C, 10% de peso em biomassa e 1 hora de tempo de reação (ROBERTS, 2015):

Tabela 8 – Rendimentos e propriedades elementares de espécies de microalgas pelo processo LHT.

Espécie	Rendimentos (% massa)			Propriedades elementares (% massa)					Referências
	Óleo	Sólidos	PA**	C	H	N	O	PCS (MJ Kg ⁻¹)	
<i>Spirulina platensis</i>	32	5	44	72,3	9,0	5,7	11,7	35,3	Jena, Das e Kastner (2011)
<i>Nannochloropsis Occulata</i>	35	2	60	68,1	8,8	4,1	18,9	34,5	Biller, Riley e Ross (2011)
<i>Porphyridium cruentum</i>	21	9	71	72,8	8,5	5,4	13,3	35,7	Biller, Riley e Ross (2011)
<i>Scenedesmus sp.</i>	45	7	17	72,6	9,0	6,5	10,5	35,5	Vardon <i>et al.</i> (2012)
<i>Spirulina sp.</i>	31	11	23	72,2	9,1	8,1	9,2	35,8	Vardon <i>et al.</i> (2012)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	30	5	29	75,8	10,6	4,5	9,1	-	Valdez <i>et al.</i> (2012)
<i>Chlorella sp.</i>	25	20*	50	70,7	8,6	5,9	14,8	35,1	Biller, Riley e Ross (2011)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	10	75*	15	68,1	8,8	4,1	18,9	34,5	Biller, Riley e Ross (2011)
<i>Porphyridium sp.</i>	10	50*	40	72,8	8,5	5,4	13,3	35,7	Biller, Riley e Ross (2011)

<i>Spirulina</i> sp.	15	45*	35	73,3	9,2	7,0	10,4	36,8	Biller, Riley e Ross (2011)
<i>Tetraselmis</i> sp.	41	14	12	71,0	9,5	5,0	14,0	35,0	Eboibi <i>et al.</i> (2014)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	39	6	21	75	10	5	10	37	Christensen <i>et al.</i> (2014)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	51	5	11	73,2	8,9	6,3	8,1	35,6	Eboibi <i>et al.</i> (2014)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	54	7	13	73,4	9,1	5,8	7,8	35,9	Eboibi <i>et al.</i> (2014)

*Incluindo rendimentos sólidos e gasosos; **PA: Produto aquoso.

Fonte: Adaptado de Roberts (2015).

3.10.1.2 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia de matéria orgânica sob ausência de receptores de elétrons, como o sulfato, nitrato ou ferro férrico é capaz de produzir metano (55-75% em volume), CO₂ (25-45% em volume) e metabólitos fermentativos. A degradação acontece através de colônias microbianas heterogêneas envolvendo múltiplas interações biológicas entre os microrganismos e o substrato. O processo pode ser dividido em quatro estágios principais: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese. A digestão anaeróbia, também chamada de fermentação metanogênica, é extensamente aplicada na digestão de esterco, lodo de esgoto e frações orgânicas de resíduos sólidos municipais (LAKANIEMI; TUOVINEN; PUHAKKA, 2013)

O processo de digestão anaeróbia da biomassa algal é estudado em várias espécies de algas de água doce e marinha em várias combinações. A eficiência de digestão pode ser atribuída aos intervalos de temperatura, métodos de pré-tratamento e uso de co-substratos (MUSSGNUG *et al.*, 2010). De acordo com Ward, Lewis e Green (2014) a produção de metano das microalgas é baixa devido a sua parede celular além da sua composição de baixa relação C/N. Portanto, a codigestão com subprodutos com base em carbono pode aumentar o rendimento do sistema. O pré-tratamento por meios físicos, químicos ou biológicos também ajudam no aumento do rendimento de metano, embora os estudos não deixem claro se o ganho de energia compensaria o investimento energético, principalmente nos casos dos pré-tratamentos mecânicos (JANKOWSKA; SAHU; OLESKOWICZ-POPIEL, 2017).

A produção de CH₄ a partir da biomassa algal varia em função do conteúdo de proteínas celulares, carboidratos, lipídios, estrutura da parede celular e as variáveis de operação do processo, como o tipo de biorreator e a temperatura de digestão. Segundo Sialve, Bernet e Bernard (2009), teoricamente as proteínas, carboidratos e lipídios resultam em 0,851, 0,415 e 1,014 L de CH₄ por grama de sólidos voláteis, respectivamente. A composição química da biomassa algal pode variar de acordo com a espécie e mesmo dentro da mesma, sob diferentes condições de cultivo (SHEEHAN *et al.*, 1998). Sendo assim, a geração de CH₄ a partir da biomassa algal deve levar em consideração diferentes condições experimentais, buscando altos rendimentos de crescimento e determinando a composição ótima para a digestão anaeróbia.

Os dados mostrados na Tabela 9 mostram o potencial teórico de metano para várias espécies de microalgas. Chinnasamy *et al.* (2010) relataram que a biomassa proveniente de cultivo com águas residuárias apresentou redução de 13% no potencial teórico.

Tabela 9 – Potenciais teóricos de metano a partir de valores médios de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio.

Espécie	C	H	N	O	Metano (mL g ⁻¹ SV ⁻¹)	Referências
<i>Chlorogloeopsis fritschii</i>	54,4	6,9	7,3	31,4	309	Biller <i>et al.</i> (2012)
<i>Spirulina platensis</i>	55,7	6,8	11,2	26,4	319	Biller <i>et al.</i> (2012)
<i>Chlorella vulgaris</i>	52,6	7,1	8,2	32,2	283	Biller <i>et al.</i> (2012)
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	53,4	7,8	7,9	31	260	Biller <i>et al.</i> (2012)
Consórcio de águas residuais	49,4	6,7	9,3	21,6	347	Chinnasamy <i>et al.</i> (2010)
Consórcio de águas residuais (lipídios extraídos)	45,9	6,2	9,3	23,6	303	Chinnasamy <i>et al.</i> (2010)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	47,6	6,6	5,5	21,7	383	Elliott <i>et al.</i> (2014)
<i>Nannochloropsis</i> sp. (baixo lipídio)	52	7,5	4,8	22,4	414	Elliott <i>et al.</i> (2014)
<i>Nannochloropsis</i> sp. (alto lipídio)	51,5	7,3	4,5	22,4	414	Elliott <i>et al.</i> (2014)

Fonte: Do autor (2022).

3.10.1.3 Gaseificação supercrítica

O processo de conversão de biomassa em gases sob água acima de seu ponto crítico (T > 374 °C e P > 22,1 MPa) recebe o nome de gaseificação supercrítica. A acentuada diminuição na densidade e viscosidade, similar à dos gases, garante propriedades de transporte e cinética de reação eficientes para produção de metano, hidrogênio, hidrocarbonetos leves e conseqüentemente energia (CALZAVARA *et al.*, 2005; WILLIAMS; ONWUDILI, 2006; ERKONAK; SÖĞÜT; AKGÜN, 2008). Nestas condições de pressão e temperatura, a constante dielétrica diminui e a água apresenta

propriedades de uma molécula apolar, sendo capaz de dissolver os componentes orgânicos em meio aquoso e inibindo a formação de co-produtos como o carvão (KIPÇAK; SÖĞÜT; AKGÜN, 2011).

A utilização da biomassa algal úmida em água supercrítica é uma tecnologia promissora devido a eliminação da etapa de secagem em comparação com a demanda de energia da gaseificação normal (BOUKIS *et al.*, 2003). Assim como a cinética neste estado é rápida, com tempo de permanência curto, necessita de sistemas que ocupam menos espaço em comparação com outros tratamentos biológicos (CROCKER; ANDREWS, 2010).

O processo de gaseificação supercrítica acontece por três reações principais: Decomposição endotérmica; reação de deslocamento água/gás, com formação de H₂ e CO₂; reação entre H₂CO e CO₂ para a formação de metano. Todas as reações que ocorrem durante o processo são exotérmicas, com exceção da decomposição da biomassa algal (BOUKIS *et al.*, 2003). A mistura gasosa de gás combustível formado principalmente por H₂, CO₂ e CH₄ juntamente com hidrocarbonetos leves (como o C₂H₆ e C₃H₈) são os resultados do processo. Elsayed *et al.* (2016) realizaram um experimento com diferentes concentrações de biomassa algal e verificaram a eficiência de gaseificação e a produção média de gás, como mostrado nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Estudo da gaseificação supercrítica com variação da concentração de biomassa.

Caso	Concentração de biomassa (% massa)	Temperatura (°C)	Produção média de mistura gasosa (L h ⁻¹)	Duração (h)	EGH (%)
1	2,5	690	6,3	8,4	96,4
2	5	600	7,6	10	87
3	5	620	8	6,5	88,2
4	5	650	8	11,0	89,5
5	5	690	10,4	8,5	91
6	10	650	10,2	11	72
7	10	690	15,7	10	87
8	10	620	11,8	9	70

9	15	690	27,5	8,3	86
10	20	690	23,6	8,4	82

*EGH: eficiência de gaseificação do carbono; Pressão: 28 MPa.

Fonte: Elsayed *et al.* (2016).

Tabela 11 – Composição da mistura gasosa derivado da gaseificação supercrítica.

Caso	H ₂ (vol %)	CO ₂ (vol %)	CH ₄ (vol %)	C ₂ H ₆ (vol %)
1	44,7	33,0	19,1	2,9
2	36,0	30,0	26,0	6,0
3	36,5	28,8	25,0	8,4
4	37,0	31,0	24,0	8,0
5	40,0	33,0	21,4	5,6
6	28,0	35,5	27,0	9,0
7	27,3	32,5	31,0	8,7
8	27,3	33,0	27,6	10,0
9	28,2	36,6	28,2	6,5
10	20,2	35,9	35,5	7,8

Fonte: Elsayed *et al.* (2016).

3.11 Conclusão

O crescimento de microalgas em efluentes possui a vantagem da produção de biomassa ao mesmo tempo em que proporciona tratamento antes do lançamento em corpos d'água. Devido a composição da água residual ser semelhante aos meios de cultura sintéticos normalmente utilizados, o fornecimento de carbono, nitrogênio, fósforo e outros componentes, favorecem o crescimento da cultura. Além disso, outra vantagem está na redução da demanda de energia durante o tratamento a partir do pós processamento da biomassa algal através das rotas de conversão.

A utilização de microalgas para o tratamento de águas residuais, foi relatada pela primeira vez por Oswald em 1960, e amplamente estudada ao redor do mundo até os dias de hoje. No entanto, o pouco desenvolvimento industrial desta tecnologia e em maior quantidade as instalações de pequena escala, deve-se ao fato da menor eficiência quando comparada aos processos convencionais. Acién et. al. (2016) mostram que para serem competitivos, os sistemas de tratamentos de efluentes à base de microalgas necessitam de: Aumentar a resiliência do processo a depender das condições ambientais; reduzir o tempo de detenção hidráulica de 7 a 11 dias, para valores próximos dos processos convencionais; reduzir o consumo de energia para menos que 0,5 kWh por metro cúbico de efluente; garantir a eficiência de tratamento de acordo com os requisitos governamentais vigentes. Para atingir tais objetivos, os fatores biológicos e a operação do processo devem ser reavaliados e melhorados.

Neste sentido, o artigo do capítulo a seguir traz um experimento em sistema aberto de cultivo submetido a variação na operação quanto ao TDH e ao regime de temperatura, identificando a influências destes parâmetros no tratamento do efluente, produção de biomassa e sua composição bioquímica para posterior aproveitamento energético.

REFERÊNCIAS

ACIÉN, F. Gabriel *et al.* Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment?. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 21, p. 9013-9022, 2016.

AKSU, Z. *et al.* Algae for waste water treatment. **Springer Germany**, v. 99, p. 37-53, 1998.

ALLEN, James *et al.* Integration of biology, ecology and engineering for sustainable algal-based biofuel and bioproduct biorefinery. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 1, p. 47, 2018.

AMIN, Sarmidi. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. **Energy conversion and management**, v. 50, n. 7, p. 1834-1840, 2009.

AN, Jin-Young *et al.* Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii*. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, n. 2-3, p. 185-191, 2003.

ARAUJO, R. **O esgoto sanitário**. In: Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reúso agrícola. Coord. NUVOLARI, A., São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. cap.2, p.15-36.

ARCILA, Juan S.; BUITRÓN, Germán. Microalgae–bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, n. 11, p. 2862-2870, 2016.

AZOV, Y.; GOLDMAN, Joel C. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. **Applied and environmental microbiology**, v. 43, n. 4, p. 735-739, 1982.

BAHULIKAR, Rahul A.; KROTH, Peter G. Localization of EPS components secreted by freshwater diatoms using differential staining with fluorophore-conjugated lectins and Other fluorochromes. **European Journal of Phycology**, v. 42, n. 2, p. 199-208, 2007.

BANAT, Ibrahim *et al.* Wastewater treatment and algal productivity in an integrated ponding system. **Biological Wastes**, v. 32, n. 4, p. 265-275, 1990.

BARREIRO, Diego López *et al.* Hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae for biofuel production: state of the art review and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p. 113-127, 2013.

BARROS, Ana I. *et al.* Harvesting techniques applied to microalgae: a review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 41, p. 1489-1500, 2015.

BARSANTI, Laura; GUALTIERI, Paolo. **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology**. CRC press, 2014.

BENEMANN, John R. Bio-fixation of CO₂ and greenhouse gas abatement with microalgae-technology roadmap. **Final Report to the US Department of Energy. National Energy Technology Laboratory**, p. 30, 2003.

BENEMANN, John R. *et al.* **Development of microalgae harvesting and high rate pond Technologies**. In California, p. 457, 1980.

BENEMANN, John R. **Opportunities and challenges in algae biofuels production**. Singapore, p. 15, 2008.

BENEMANN, John R.; OSWALD, William J. **Systems and economic analysis of microalgae ponds for conversion of CO₂ to biomass. Final report**. California Univ., Berkeley, CA (United States). Dept. of Civil Engineering, 1996.

BENEMANN, John R.; TILLET, David M.; WEISSMAN, Joseph C. Microalgae biotechnology. **Trends in biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 47-53, 1987.

BILLER, P.; RILEY, R.; ROSS, A. B. Catalytic hydrothermal processing of microalgae: decomposition and upgrading of lipids. **Bioresource technology**, v. 102, n. 7, p. 4841-4848, 2011.

BILLER, Patrick *et al.* Nutrient recycling of aqueous phase for microalgae cultivation from the hydrothermal liquefaction process. **Algal Research**, v. 1, n. 1, p. 70-76, 2012.

BOROWITZKA, Michael A. Limits to growth. In: **Wastewater treatment with algae**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1998. p. 203-226.

BOUKIS, N. *et al.* Methanol reforming in supercritical water. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 4, p. 728-735, 2003.

BRENNAN, Liam; OWENDE, Philip. Biofuels from microalgae — a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 14, n. 2, p. 557-577, 2010.

BUCHANAN, Neil A. *et al.* Performance of a high rate algal pond treating septic tank effluent from a community wastewater management scheme in rural South Australia. **Algal research**, v. 35, p. 325-332, 2018.

BUMBAK, Fabian *et al.* Best practices in heterotrophic high-cell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 91, n. 1, p. 31, 2011.

CAI, Ting *et al.* Comparison of *Synechocystis* sp. PCC6803 and *Nannochloropsis salina* for lipid production using artificial seawater and nutrients from anaerobic digestion effluent. **Bioresource technology**, v. 144, p. 255-260, 2013.

CALZAVARA, Y. *et al.* Evaluation of biomass gasification in supercritical water process for hydrogen production. **Energy conversion and management**, v. 46, n. 4, p. 615-631, 2005.

CATUNDA, P. FC; VAN HAANDEL, A. C. Activated sludge settlers: design and optimization. **Water Science and Technology**, v. 19, n. 3-4, p. 613-623, 1987.

CHEN, Chunxiang; MA, Xiaoqian; LIU, Kai. Thermogravimetric analysis of microalgae combustion under different oxygen supply concentrations. **Applied Energy**, v. 88, n. 9, p. 3189-3196, 2011.

CHEN, Guanyi; ZHAO, Liu; QI, Yun. Enhancing the productivity of microalgae cultivated in wastewater toward biofuel production: a critical review. **Applied Energy**, v. 137, p. 282-291, 2015.

CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias** – Vol. 5 – Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte: Segrac, 1997. 246p.

CHINNASAMY, Senthil *et al.* Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. **Bioresource technology**, v. 101, n. 9, p. 3097-3105, 2010.

CHIRANJEEVI, P.; MOHAN, S. Venkata. Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing biomass growth with simultaneous lipid productivity. **Renewable Energy**, v. 98, p. 64-71, 2016.

CHISHOLM, Sallie W. *et al.* *Prochlorococcus marinus* nov. gen. nov. sp.: an oxyphototrophic marine prokaryote containing divinyl chlorophyll a and b. **Archives of Microbiology**, v. 157, n. 3, p. 297-300, 1992.

CHISTI, Yusuf. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CHRISTENSEN, Per Sigaard *et al.* Hydrothermal liquefaction of the microalgae *Phaeodactylum tricornutum*: impact of reaction conditions on product and elemental distribution. **Energy & fuels**, v. 28, n. 9, p. 5792-5803, 2014.

CHRISTENSON, Logan; SIMS, Ronald. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 6, p. 686-702, 2011.

COUTO, Eduardo; CALIJURI, Maria Lúcia; ASSEMANY, Paula. Biomass production in high rate ponds and hydrothermal liquefaction: Wastewater treatment and bioenergy integration. **Science of The Total Environment**, p. 138104, 2020.

CRAGGS, R. J. *et al.* Advanced pond system: performance with high rate ponds of different depths and areas. **Water Science and Technology**, v. 48, n. 2, p. 259-267, 2003.

CRAGGS, R. J. *et al.* Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal. **Water Science and Technology**, v. 63, n. 4, p. 660-665, 2011.

CRAGGS, R. J. *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.

CRAGGS, Rupert J. Advanced integrated wastewater ponds. **Pond Treatment Technology**. Londres: IWA Publishing, p. 282–310, 2005.

CRAGGS, Rupert J.; LUNDQUIST, Tryg J.; BENEMANN, John R. Wastewater treatment and algal biofuel production. In: **Algae for biofuels and energy**. Springer, Dordrecht, 2013. p. 153-163.

CRAGGS, Rupert J.; LUNDQUIST, Tryg; BENEMANN, John. Wastewater treatment pond algal production for biofuel. In: **The science of algal fuels**. Springer, Dordrecht, 2012. p. 425-445.

CRAGGS, Rupert; SUTHERLAND, Donna; CAMPBELL, Helena. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 3, p. 329-337, 2012.

CROCKER, Mark; ANDREWS, Rodney. The rationale for biofuels. **Thermochemical conversion of biomass to liquid fuels and chemicals**, v. 1, p. 1-25, 2010.

CROMAR, N. J.; FALLOWFIELD, Howard J.; MARTIN, N. J. Influence of environmental parameters on biomass production and nutrient removal in a high rate algal pond operated by continuous culture. **Water science and technology**, v. 34, n. 11, p. 133-140, 1996.

DALRYMPLE, Omatoyo K. *et al.* Wastewater use in algae production for generation of renewable resources: a review and preliminary results. **Aquatic biosystems**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2013.

DAUTA, Alain *et al.* Growth rate of four freshwater algae in relation to light and temperature. **Hydrobiologia**, v. 207, n. 1, p. 221-226, 1990.

DE GODOS, Ignacio *et al.* Evaluation of carbon dioxide mass transfer in raceway reactors for microalgae culture using flue gases. **Bioresource Technology**, v. 153, p. 307-314, 2013.

DE GODOS, Ignacio *et al.* Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algae ponds treating agro-industrial wastewaters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, n. 1-3, p. 1049-1054, 2010.

DE GODOS, Ignacio *et al.* Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 19, p. 4332-4339, 2009.

DE OLIVEIRA, R. *et al.* The performance of a pilot-scale series of ten ponds treating municipal sewage in northeast Brazil. **Water Science and Technology**, v. 33, n. 7, p. 57-61, 1996.

DE-BASHAN, Luz E. *et al.* Role of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in *Chlorella vulgaris* during assimilation of ammonium when jointly immobilized with

the microalgae-growth-promoting bacterium *azospirillum brasilense* 1. **Journal of Phycology**, v. 44, n. 5, p. 1188-1196, 2008.

DERNER, Roberto B. *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DIEHL, Sebastian *et al.* Phytoplankton, light, and nutrients in a gradient of mixing depths: field experiments. **Ecology**, v. 83, n. 2, p. 399-411, 2002.

EBOIBI, B. E. *et al.* Effect of operating conditions on yield and quality of biocrude during hydrothermal liquefaction of halophytic microalga *Tetraselmis* sp. **Bioresource technology**, v. 170, p. 20-29, 2014.

EISENBERG, D. M. *et al.* Algal bioflocculation and energy conservation in microalgal sewage ponds. In: **Biotechnol. Bioeng. Symp.; (United States)**. 1981.

EL HAMOURI, B. *et al.* High-rate algal pond performances in faecal coliforms and helminth egg removals. **Water Research**, v. 28, n. 1, p. 171-174, 1994.

ELLIOTT, Douglas C. *et al.* Hydrothermal liquefaction of biomass: developments from batch to continuous process. **Bioresource technology**, v. 178, p. 147-156, 2015

ELLIOTT, Douglas C. *et al.* Process development for hydrothermal liquefaction of algae feedstocks in a continuous-flow reactor. **Algal Research**, v. 2, n. 4, p. 445-454, 2014.

ELSAYED, Sherif *et al.* Gasification of microalgae using supercritical water and the potential of effluent recycling. **Chemical Engineering & Technology**, v. 39, n. 2, p. 335-342, 2016.

ERKONAK, Hülya; SÖĞÜT, Onur Ö.; AKGÜN, Mesut. Treatment of olive mill wastewater by supercritical water oxidation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 2, p. 142-148, 2008.

FALKOWSKI, Paul G. Physiological responses of phytoplankton to natural light regimes. **Journal of Plankton Research**, v. 6, n. 2, p. 295-307, 1984.

FALLOWFIELD, H. J.; CROMAR, N. J.; EVANS, R. A. The use of high rate algal ponds in the treatment of abattoir wastes. **Final report for Meat and Livestock Australia, RPDA**, v. 501, 2001.

FARJALLA, Vinicius F. *et al.* DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 5, p. 531-538, 2009.

FEDERATION, Water Environmental et al. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA**, 2005.

FERNÁNDEZ, FG Acién *et al.* Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 8, p. 2721-2732, 2001.

GARCÍA, J. *et al.* Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 14, p. 1709-1715, 2006.

GARCIA, J.; MUJERIEGO, R.; HERNANDEZ-MARINE, M. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3-5, p. 331-339, 2000.

GARCIA, Joan; HERNÁNDEZ-MARINÉ, Mariona; MUJERIEGO, Rafael. Influence of Phytoplankton Composition on Biomass Removal from High-Rate Oxidation Lagoons by Means of Sedimentation and Spontaneous Flocculation. **Water environment research**, v. 72, n. 2, p. 230-237, 2000.

GARCÍA-GONZÁLEZ, M. *et al.* Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. **Journal of Applied Phycology**, v. 15, n. 2-3, p. 177-184, 2003.

GERARDO, Michael L. *et al.* Harvesting of microalgae within a biorefinery approach: A review of the developments and case studies from pilot-plants. **Algal Research**, v. 11, p. 248-262, 2015.

GERLOFF-ELIAS, ANTJE; SPIJKERMAN, Elly; PRÖSCHOLD, Thomas. Effect of external pH on the growth, photosynthesis and photosynthetic electron transport of *Chlamydomonas acidophila* Negoro, isolated from an extremely acidic lake (pH 2.6). **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 10, p. 1218-1229, 2005.

GOLDMAN, Joel C. *et al.* The effect of pH in intensive microalgal cultures. I. Biomass regulation. **Journal of experimental marine biology and ecology**, v. 57, n. 1, p. 1-13, 1982.

GROBBELAAR, J. U.; BORNMAN, C. H. Algal biotechnology: real opportunities for Africa. **South African Journal of Botany**, v. 70, n. 1, p. 140-144, 2004.

GUO, Yang *et al.* A review of bio-oil production from hydrothermal liquefaction of algae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 48, p. 776-790, 2015.

GUŠTIN, Simon; MARINŠEK-LOGAR, Romana. Effect of pH, temperature and air flow rate on the continuous ammonia stripping of the anaerobic digestion effluent. **Process safety and environmental protection**, v. 89, n. 1, p. 61-66, 2011.

HAAG, Werner R.; HOIGNE, Juerg. Singlet oxygen in surface waters photochemical formation and steady-state concentrations in various types of waters. **Environmental science & technology**, v. 20, n. 4, p. 341-348, 1986.

HADIYANTO, H. *et al.* Hydrodynamic evaluations in high rate algae pond (HRAP) design. **Chemical Engineering Journal**, v. 217, p. 231-239, 2013.

HALLMANN, Armin. Algae biotechnology—green cell-factories on the rise. **Current Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 389-415, 2015.

HAN, Ting *et al.* Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 10, n. 1, p. 1-29, 2017.

HE, P. J. *et al.* Cultivation of *Chlorella vulgaris* on wastewater containing high levels of ammonia for biodiesel production. **Bioresource technology**, v. 129, p. 177-181, 2013.

HENDERSON, Rita K.; PARSONS, Simon A.; JEFFERSON, Bruce. The potential for using bubble modification chemicals in dissolved air flotation for algae removal. **Separation Science and Technology**, v. 44, n. 9, p. 1923-1940, 2009.

HENDERSON, Rita; PARSONS, Simon A.; JEFFERSON, Bruce. The impact of algal properties and pre-oxidation on solid–liquid separation of algae. **Water research**, v. 42, n. 8-9, p. 1827-1845, 2008.

HEUBECK, S.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. Influence of CO₂ scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 193-200, 2007.

HUMENIK, Frank J.; HANNA JR, George P. Algal-bacterial symbiosis for removal and conservation of wastewater nutrients. **Journal (Water Pollution Control Federation)**, p. 580-594, 1971.

IP, S. Y. et al. Algal growth in primary settled sewage: the effects of five key variables. **Water research**, v. 16, n. 5, p. 621-632, 1982.

JANKOWSKA, Ewelina; SAHU, Ashish K.; OLESKOWICZ-POPIEL, Piotr. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, p. 692-709, 2017.

JAZRAWI, Christopher *et al.* Pilot plant testing of continuous hydrothermal liquefaction of microalgae. **Algal Research**, v. 2, n. 3, p. 268-277, 2013.

JENA, Umakanta; DAS, K. C.; KASTNER, J. R. Effect of operating conditions of thermochemical liquefaction on biocrude production from *Spirulina platensis*. **Bioresource technology**, v. 102, n. 10, p. 6221-6229, 2011.

JIA, Huijun; YUAN, Qiuyan. Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae–bacteria consortia. **Cogent Environmental Science**, v. 2, n. 1, p. 1275089, 2017.

JORDÃO, E.P., PESSÔA, C.A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ed., Rio de Janeiro, 2005. 960p.

JÚNIOR, Humberto Carlos Ruggeri. **Pós-tratamento de efluente de lagoa facultativa visando à remoção de nitrogênio amoniacal**. Universidade de São Paulo, 2011.

KIM, Byung-Hyuk *et al.* Influence of water depth on microalgal production, biomass harvest, and energy consumption in high rate algal pond using municipal wastewater. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 630-637, 2018.

KIM, M. K. *et al.* Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. **Bioresource technology**, v. 98, n. 11, p. 2220-2228, 2007.

KIPÇAK, Ekin; SÖĞÜT, Onur Ö.; AKGÜN, Mesut. Hydrothermal gasification of olive mill wastewater as a biomass source in supercritical water. **The Journal of supercritical fluids**, v. 57, n. 1, p. 50-57, 2011.

KIRK, J. T. O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. Cambridge university press, 1994.

KONG, Qing-xue *et al.* Culture of microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in wastewater for biomass feedstock production. **Applied biochemistry and Biotechnology**, v. 160, n. 1, p. 9, 2010.

KROON, Bernd *et al.* Modelling microalgal productivity in a high rate algal pond based on wavelength dependent optical properties. **Journal of applied phycology**, v. 1, n. 3, p. 247-256, 1989.

KUMAR, Rajiv; GOYAL, Dinesh. Waste water treatment and metal (Pb^{2+} , Zn^{2+}) removal by microalgal based stabilization pond system. **Indian journal of microbiology**, v. 50, n. 1, p. 34-40, 2010.

LAKANIEMI, Aino-Maija; TUOVINEN, Olli H.; PUHAKKA, Jaakko A. Anaerobic conversion of microalgal biomass to sustainable energy carriers—a review. **Bioresource technology**, v. 135, p. 222-231, 2013.

LARSDOTTER, Karin. Wastewater treatment with microalgae—a literature review. **Vatten**, v. 62, n. 1, p. 31, 2006.

LAU, P. S.; TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. **Environmental Pollution**, v. 89, n. 1, p. 59-66, 1995.

LAVOIE, Alain; DE LA NOÛE, J. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* in wastewaters: Auto-or bioflocculation?. **Biotechnology and bioengineering**, v. 30, n. 7, p. 852-859, 1987.

LEE, Yuan-Kun. Enclosed bioreactors for the mass cultivation of photosynthetic microorganisms: the future trend. **Trends in biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 186-189, 1986.

LETTINGA, G.; van VELSEN, F.M.; HOBMA, S.W.; ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) – reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**. 1980. v.22, n.4, p. 699-734.

LIN, Tse-Shih; WU, Jane-Yii. Effect of carbon sources on growth and lipid accumulation of newly isolated microalgae cultured under mixotrophic condition. **Bioresource technology**, v. 184, p. 100-107, 2015.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 606 p., 2006.

LOW-DÉCARIE, Etienne; BELL, Graham; FUSSMANN, Gregor F. CO₂ alters community composition and response to nutrient enrichment of freshwater phytoplankton. **Oecologia**, v. 177, n. 3, p. 875-883, 2015.

LOWREY, Joshua; BROOKS, Marianne S.; MCGINN, Patrick J. Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges—a critical review. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 4, p. 1485-1498, 2015.

LUNDQUIST, T. J. *et al.* A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production. **Energy Biosciences Institute**, p. 1, 2010.

MAKAREVICIENE, Violeta *et al.* Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. as a potential biofuel feedstock. **Environmental Research, Engineering and Management**, v. 57, n. 3, p. 21-27, 2011.

MARA, D. Duncan. *et al.* Performance of the Burwarton Estate waste stabilization ponds. **Water and Environment Journal**, v. 12, n. 4, p. 260-264, 1998.

MARA, D. Duncan. Waste stabilization ponds: effluent quality requirements and implications for process design. **Water Science and technology**, v. 33, n. 7, p. 23, 1996.

MATA, Teresa M.; MARTINS, Antonio A.; CAETANO, Nidia S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MAYALI, Xavier; DOUCETTE, Gregory J. Microbial community interactions and population dynamics of an algicidal bacterium active against *Karenia brevis* (Dinophyceae). **Harmful algae**, v. 1, n. 3, p. 277-293, 2002.

MAYO, Aloyce W.; MUTAMBA, Jeremiah. Effect of HRT on nitrogen removal in a coupled HRP and unplanted subsurface flow gravel bed constructed wetland. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 29, n. 15-18, p. 1253-1257, 2004.

MAYO, Aloyce W.; MUTAMBA, Jeremiah. Modelling nitrogen removal in a coupled HRP and unplanted horizontal flow subsurface gravel bed constructed wetland. **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 30, n. 11-16, p. 673-679, 2005.

MENDES, Benilde S. *et al.* Efficiency of removal in stabilization ponds I. Influence of climate. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 12, p. 219-229, 1995.

MENDOZA, J. L. *et al.* Oxygen transfer and evolution in microalgal culture in open raceways. **Bioresource technology**, v. 137, p. 188-195, 2013.

METCALF, Leonard; EDDY, Harrison P. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. Boston: McGraw-Hill, 2003.

MOHAMMED, K. *et al.* Energy-efficient stirred-tank photobioreactors for simultaneous carbon capture and municipal wastewater treatment. **Water science and technology**, v. 69, n. 10, p. 2106-2112, 2014.

MORAINE, R. *et al.* Algal single cell protein from wastewater treatment and renovation process. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 21, n. 7, p. 1191-1207, 1979.

MORGAN-KISS, Rachael M. *et al.* Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 70, n. 1, p. 222-252, 2006.

MUNOZ, Raul *et al.* Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continuous stirred tank photobioreactor. **Biotechnology and bioengineering**, v. 87, n. 6, p. 797-803, 2004.

MUSSGNUM, Jan H. *et al.* Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. **Journal of biotechnology**, v. 150, n. 1, p. 51-56, 2010.

NETO, C.O.; CAMPOS, J.R. **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1.ed. Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, 1999. cap 1, p.1-28.

NIRMALAKHANDAN, N. *et al.* Algal wastewater treatment: Photoautotrophic vs. mixotrophic processes. **Algal Research**, v. 41, p. 101569, 2019.

NURDOGAN, Yakup. **Microalgal separation from high rate ponds**. University of California, Berkeley, 1989.

NUVOLARI, A. **Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. 520p.

ORPEZ, Rafael *et al.* Growth of the microalga *Botryococcus braunii* in secondarily treated sewage. **Desalination**, v. 246, n. 1-3, p. 625-630, 2009.

OSUNDEKO, Olumayowa. **Sustainable Production of Biofuel from Microalgae Grown in Wastewater**. The University of Manchester (United Kingdom), 2014.

OSWALD, William J. Advanced integrated wastewater pond systems. In: **supplying water and saving the environment for six billion people**. ASCE, 1990. p. 73-81.

OSWALD, William J. **Micro-algae and waste-water treatment. Micro-Algal Biotechnology**. Cambridge University Press, Cambridge, 1988.

OSWALD, William J. **Sewage treatment in tropical high rate ponds**. National Conference on Environmental Engineering, Lake Buena Vista, 1987.

PALMER, Molly A. *et al.* Light and nutrient control of photosynthesis in natural phytoplankton populations from the Chukchi and Beaufort seas, Arctic Ocean. **Limnology and oceanography**, v. 58, n. 6, p. 2185-2205, 2013.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, p. 633-639, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Enhancing biomass energy yield from pilot-scale high rate algal ponds with recycling. **Water research**, v. 47, n. 13, p. 4422-4432, 2013.

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.

PEREZ-GARCIA, Octavio *et al.* Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water research**, v. 45, n. 1, p. 11-36, 2011.

PÉREZ-LÓPEZ, Paula *et al.* Life cycle assessment of the production of the red antioxidant carotenoid astaxanthin by microalgae: from lab to pilot scale. **Journal of cleaner production**, v. 64, p. 332-344, 2014.

PETROU, K. *et al.* State transitions and nonphotochemical quenching during a nutrient-induced fluorescence transient in phosphorus-starved *dunaliella tertiolecta* 1. **Journal of Phycology**, v. 44, n. 5, p. 1204-1211, 2008.

PHOOCHINDA, W.; WHITE, D. A. Removal of algae using froth flotation. **Environmental technology**, v. 24, n. 1, p. 87-96, 2003.

PICOT, B. *et al.* Using diurnal variations in a high rate algal pond for management pattern. **Water Science and Technology**, v. 28, n. 10, p. 169-175, 1994.

PIRES, J. C. M. *et al.* Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3043-3053, 2012.

POWELL, Nicola *et al.* Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. **Environmental science & technology**, v. 42, n. 16, p. 5958-5962, 2008.

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

PUTT, Ron *et al.* An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO₂ mass transfer. **Bioresource technology**, v. 102, n. 3, p. 3240-3245, 2011.

RAHEEM, Abdul *et al.* Thermogravimetric study of *Chlorella vulgaris* for syngas production. **Algal research**, v. 12, p. 52-59, 2015.

RAS, Monique; STEYER, Jean-Philippe; BERNARD, Olivier. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 12, n. 2, p. 153-164, 2013.

RASO, Sayam *et al.* Effect of oxygen concentration on the growth of *Nannochloropsis* sp. at low light intensity. **Journal of applied phycology**, v. 24, n. 4, p. 863-871, 2011.

REITH, J. H. *et al.* **Bio-methane and bio-hydrogen: status and perspectives of biological methane and hydrogen production**. Dutch Biological Hydrogen Foundation, 2003.

RICHMOND, Amos. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. John Wiley & Sons, 2004.

RICHMOND, Amos; CHENG-WU, Zhang; ZARMI, Yair. Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 229-236, 2003.

ROBERTS, Griffin William. **Hydrothermal liquefaction of municipal wastewater cultivated algae: Increasing overall sustainability and value streams of algal biofuels**. University of Kansas, 2015.

RODRÍGUEZ-ROMÁN, Aimé; IGLESIAS-PRIETO, Roberto. Regulation of photochemical activity in cultured symbiotic dinoflagellates under nitrate limitation and deprivation. **Marine Biology**, v. 146, n. 6, p. 1063-1073, 2005.

SAKAI, N. *et al.* Chlorella strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂. **Energy Conversion and Management**, v. 36, n. 6-9, p. 693-696, 1995.

SANTIAGO, Aníbal Fonseca *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.

SCHETRITE, S.; RACAULT, Y. Purification by a natural waste stabilization pond: Influence of weather and ageing on treatment quality and sediment thickness. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 12, p. 191-200, 1995.

SHEEHAN, John *et al.* A look back at the US Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae. **National Renewable Energy Laboratory**, v. 328, p. 1-294, 1998.

SHELEF, G. High-rate algae ponds for wastewater treatment and protein production. **Water Science and Technology**, v. 14, n. 1-2, p. 439-452, 1982.

SHEN, Y. *et al.* Microalgae mass production methods. **Transactions of the ASABE**, v. 52, n. 4, p. 1275-1287, 2009.

SHIN, H. K.; POLPRASERT, Chongrak. Ammonia nitrogen removal in attached-growth ponds. **Journal of Environmental Engineering**, v. 114, n. 4, p. 846-863, 1988.

SIALVE, Bruno; BERNET, Nicolas; BERNARD, Olivier. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. 2009.

SINGH, Gulab; PATIDAR, S. K. Microalgae harvesting techniques: A review. **Journal of environmental management**, v. 217, p. 499-508, 2018.

SKJÅNES, Kari; REBOURS, Céline; LINDBLAD, Peter. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. **Critical reviews in biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 172-215, 2013.

SLADE, Raphael; BAUEN, Ausilio. Micro-algae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and bioenergy**, v. 53, p. 29-38, 2013.

SOLER, A. *et al.* Performance of two municipal sewage stabilization pond systems with high and low loading in South-eastern Spain. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 12, p. 81-90, 1995.

SOMPECH, Kawisra; CHISTI, Yusuf; SRINOPHAKUN, Thongchai. Design of raceway ponds for producing microalgae. **Biofuels**, v. 3, n. 4, p. 387-397, 2012.

SUTHERLAND, Donna L. *et al.* Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource technology**, v. 184, p. 222-229, 2015.

SWEENEY, D. G. *et al.* Temporal and spatial variation of physical, biological, and chemical parameters in a large waste stabilisation pond, and the implications for WSP modelling. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 1-9, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Editora Artmed, Porto Alegre, 2006.

TALBOT, P. *et al.* A comparative study and mathematical modeling of temperature, light and growth of three microalgae potentially useful for wastewater treatment. **Water research**, v. 25, n. 4, p. 465-472, 1991.

TING, Han *et al.* Progress in microalgae cultivation photobioreactors and applications in wastewater treatment: A review. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 10, n. 1, p. 1-29, 2017.

TREDICI, Mario R. *et al.* Mass production of microalgae: photobioreactors. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**, v. 1, p. 178-214, 2004.

UDUMAN, Nyomi *et al.* Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. **Journal of renewable and sustainable energy**, v. 2, n. 1, p. 012701, 2010.

VALDEZ, Peter J. *et al.* Hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp.: Systematic study of process variables and analysis of the product fractions. **Biomass and Bioenergy**, v. 46, p. 317-331, 2012.

VANDAMME, Dries; FOUBERT, Imogen; MUYLAERT, Koenraad. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233-239, 2013.

VARDON, Derek R. *et al.* Thermochemical conversion of raw and defatted algal biomass via hydrothermal liquefaction and slow pyrolysis. **Bioresource technology**, v. 109, p. 178-187, 2012.

VASUMATHI, K. K.; PREMALATHA, M.; SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 7, p. 5443-5450, 2012.

VEJRAZKA, Carsten *et al.* Photosynthetic efficiency and oxygen evolution of *Chlamydomonas reinhardtii* under continuous and flashing light. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 4, p. 1523-1532, 2013.

VON SPERLING, M.; MASCARENHAS, L. C. A. M. Performance of very shallow ponds treating effluents from UASB reactors. **Water Science and Technology**, v. 51, n. 12, p. 83-90, 2005.

VON SPERLING, Marcos. Relationship between first-order decay coefficients in ponds, for plug flow, CSTR and dispersed flow regimes. **Water science and technology**, v. 45, n. 1, p. 17-24, 2002.

WAN, Chun *et al.* Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies. **Bioresource technology**, v. 184, p. 251-257, 2015.

WANG, Liang *et al.* Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 1174-1186, 2010.

WANG, Lijun; NANCOLLAS, George H. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution. **Chemical reviews**, v. 108, n. 11, p. 4628-4669, 2008.

WARBURG, O. The rate of the photochemical decomposition of carbonic acid in living cells. **Biochemical Journal**, v. 100, p. 230-270, 1919.

WARD, A. J.; LEWIS, D. M.; GREEN, F. B. Anaerobic digestion of algae biomass: a review. **Algal Research**, v. 5, p. 204-214, 2014.

WEISSMAN, J. C.; GOEBEL, R. P. Factors affecting the photosynthetic yield of microalgae. **Aquatic Species Program Annual Report**. Solar Energy Research Institute, Golden, Colorado, p. 139-168, 1987.

WEISSMAN, Joseph C.; GOEBEL, Raymond P.; BENEMANN, John R. Photobioreactor design: mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. **Biotechnology and bioengineering**, v. 31, n. 4, p. 336-344, 1988.

WILKIE, Ann C.; MULBRY, Walter W. Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. **Bioresource technology**, v. 84, n. 1, p. 81-91, 2002.

WILLIAMS, Paul T.; ONWUDILI, Jude. Subcritical and supercritical water gasification of cellulose, starch, glucose, and biomass waste. **Energy & Fuels**, v. 20, n. 3, p. 1259-1265, 2006.

WOERTZ, Ian *et al.* Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock. **Journal of Environmental Engineering**, v. 135, n. 11, p. 1115-1122, 2009.

YOON, Seung-Heon; MUKERJEA, Rupendra; ROBYT, John F. Specificity of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in removing carbohydrates by fermentation. **Carbohydrate research**, v. 338, n. 10, p. 1127-1132, 2003.

YOUNG, P.; BUCHANAN, N.; FALLOWFIELD, H. J. Inactivation of indicator organisms in wastewater treated by a high rate algal pond system. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, n. 2, p. 577-586, 2016.

ZHOU, Wenguang *et al.* Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 13, p. 6909-6919, 2011.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO – “High rate algal pond for biomass production and nutrient recovery from wastewater treatment plant effluent: effect of hydraulic retention time and temperature” (versão preliminar)

Abstract

The algal cultivation in high rate algal ponds (HRAP), compared to conventional tertiary treatment systems, has the comparative advantage of CO₂ fixation and high biomass production, besides using wastewater as a source of nutrients and water while providing the effluent treatment. In this system, the microalgae and bacteria consortia directly intervene in the nutrient removal dynamics, and the recovered biomass has potential use for energy conversion. In order to evaluate the performance of microalgae-based biotechnology to treat wastewater plant effluent, an HRAP was operated with hydraulic retention times (HRT) of 10 and 5 days and temperature maintenance at 28 °C and natural variation throughout the day. Statistical and laboratory analysis of nutrient removal and biomass production and characterization supported the evaluation of the system throughout 4 operational phases. Under variable temperature and HRT of 10 days, this study resulted in the highest values of number of microalgae cells ($1.60\text{E}+06 \pm 3.73\text{E}+05$ cell mL⁻¹), chlorophyll-*a* (3.66 ± 0.46 mg L⁻¹), volatile suspended solids (133.57 ± 6.11 mg L⁻¹), primary and total biomass productivities (0.13 ± 0.02 and 4.85 ± 0.22 g m⁻² d⁻¹). In turn, this HRT at 28 °C provided greater organic matter removal. Finally, the microalgae/bacteria biomass showed suitable characterization for subsequent energy recovery, with contents of carbohydrates (19.61 ± 2.78 %), proteins (10.69 ± 0.19 %), neutral lipids (1.61 ± 0.58 %) and polar lipids (9.79 ± 2.52 %).

Keywords: microalgae/bacteria consortia, effluent treatment, nutrient recovery, cell content, biomass valorization, bioenergy

1 Introduction

High rate algal ponds (HRAP), developed in the 1950s, are an economical and efficient alternative to conventional stabilization ponds, offering bioremediation solutions for

effluents of various types such as agricultural, municipal, and industrial (Craggs et al., 2015; de Godos et al., 2009, 2010). The use of effluents as a microalgae growth medium overcomes the limitation of this system in terms of water evaporation and provides nutrients, mainly organic matter, nitrogen, and phosphorus, for the metabolism and development of mixed biomass (Lam and Lee, 2012; Salama et al., 2017).

Along with the effluent treatment, in this reactor, the recovery of nutrients takes place in the form of microalgal/bacterial biomass, which can be used in biorefineries for value-added products, such as fertilizers and biofuels (Beckstrom et al., 2020; Jenkins et al., 2017; Solé-Bundó et al., 2019). Therefore, integrating effluent bioremediation into microalgae-based products offers the plant design towards circular bioeconomy and more sustainable wastewater treatment plants (WWTP).

According to Rawat et al. (2011), in mixotrophic culture, under optimal conditions regarding the availability of nutrients, light, and temperature, high biomass concentrations can be observed in HRAP treating wastewater. However, Park and Craggs (2010) and Sutherland et al. (2015) warn about low light penetration in the system, reducing photosynthesis and productivity, mainly when cultivation occurs with effluents. So, equivalent to other outdoor and open wastewater treatment systems, HRAP is more sensitive to variations in environmental conditions such as light, temperature, and predators (Mata et al., 2010). Furthermore, when compared to other microalgae culture reactors, such as closed photobioreactors, the performance of HRAP in biomass productivity is generally lower. Jorquera et al. (2010) cited the volumetric productivity for HRAP and tubular photobioreactor of 0.035 and 0.56 g L⁻¹ d, respectively. Thus, some strategies are used in the literature to improve the HRAP performance during effluent treatment, such as carbon supplementation (Viswanaathan et al., 2022), use of ultraviolet pre-disinfection (Santiago et al., 2013), biomass recirculation (Daiek et al., 2022), variation of hydraulic retention time (HRT) (Takabe et al., 2016) and the light intensity (Assemany et al., 2015a), among others.

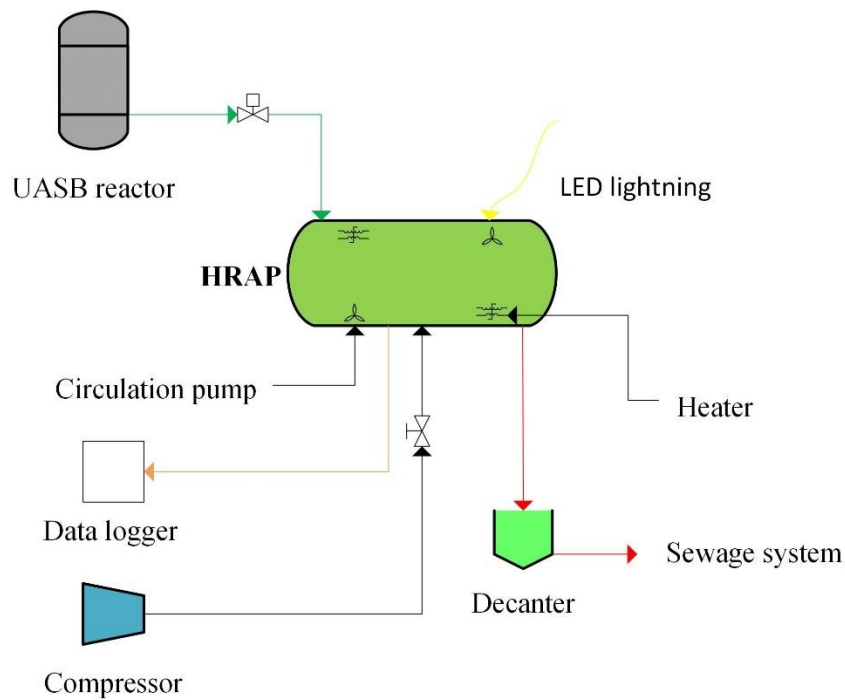
Sutherland et al. (2015) cited that the ideal temperature range for microalgae cultures is usually between 15 and 30 °C. Although the higher temperature is associated with higher growth rates and nutrient absorption due to increased metabolic activity, this condition may not naturally occur in HRAP (Singh and Singh, 2015). Nonetheless, Mohsenpour et al. (2021) noted that conventional heating methods might demand high energy consumption due to the high volume and area required for the HRAP operation.

The HRT refers to the average time that the effluent and microalgae/bacteria remain in the pond, being an important parameter to determine the efficiency and treatment cost (Ding et al., 2021). The HRAP operating range will depend on the effluent to be treated, specifically on the organic load applied per unit of area, as in facultative ponds. However, commonly adopted HRT varied between 4 and 10 days, predominantly when there is no limitation on land use (Whitton et al., 2015). Kim et al. (2014) suggested keeping the HRT long enough for the culture to reach maximum growth rate with high nutrient uptake. In this study, divided into 4 phases, the 5 and 10 days of HRT were evaluated under natural temperature variation throughout the day and temperature-controlled at 28 °C, using wastewater plant effluent as a culture medium in HRAP. The main objective was to evaluate the best operational conditions of cultivation, observing the biomass production, nutrient removal efficiency, and recovered biomass characterization.

2 Materials and methods

The experiment was carried out between March and September 2021 at the WTP of the Federal University of Lavras (21° 13' 49" S, 44° 59' 22" W), with pre-treated effluent in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. The HRAP was installed indoors with a capacity of 175 L operated with inlet flows of 17.5 and 35 L d⁻¹, corresponding, respectively, to 10 and 5 HRT days. 6500 k LED lamps provided 190 μmol s⁻¹ m⁻² under a 12-hour photoperiod. The culture medium was agitated by circulation pumps and aeration via an electromagnetic compressor. Temperature maintenance at 28 °C was done using 300 W heaters (Figure 1). A Novus LogBox BLE data logger performed data acquisition of air and culture medium temperatures. The operational phases were: 1 and 2 with variable temperature and HRT of 10 and 5 days, respectively; 3 and 4 with temperature maintenance at 28 °C and HRT of 5 and 10 days, respectively.

Figure 1. Flowchart of HRAP inputs and outputs.



Source: From the author (2022).

2.1 Laboratory analysis

For each operation phase, 5 weekly sampling collections were performed for nutrient removal and biomass production analysis. After each phase, the biomass harvesting was done through gravitational sedimentation in a decanter, and then the biomass was dried at 45 °C. The collected and dried biomass was used for the biochemical characterization analysis at the end of each phase. The analysis methodologies are described in Table 1.

Table 1. Analysis and applied methods.

Variable	Method
Nutrient removal	
Chemical oxygen demand (COD)	American Public Health Association - APHA (2012), method 5220D

Ammonia nitrogen (N-NH ₃)	American Public Health Association - APHA (2012), method 4500-NH ₃ B e C
Total kjeldahl nitrogen (TKN)	American Public Health Association – APHA (2012), method 4500PC
Total and soluble phosphorus	American Public Health Association - APHA (2012), method 4500-P E, adapted from Matos (2012)
Biomass production	
Chlorophyll- <i>a</i> (chl _a)	American Public Health Association - APHA (2012), Nusch (1980) and Nederlands Norm (NEN 6520) (1981)
Volatile suspended solids (VSS)	American Public Health Association - APHA (2012), method 2540
Cell count	Neubauer chamber in an optical microscope
Predominant microalgae genus	Optical microscope observation and specialized literature
Biomass characterization	
High heating value (HHV)	IKA C1 calorimeter
Ash	Couto et al. (2018)
Moisture	Couto et al. (2018)
Protein	American Public Health Association - APHA (2012), method 4500PC
Neutral and polar lipids	Soxhlet extraction with hexane and ethanol (Ramluckan et al., 2014)

Source: From the author (2022).

For the determination of chlorophyll-*a*, the extraction technique with 80 % heated ethanol was used (Nusch, 1980), reading by spectrophotometry (American Public Health Association - APHA, 2012) and the calculations were performed using the equations described by the Netherlands Norm (NEN 6520) (1981). In turn, to determine the HHV, the biomass burning in the IKA C1 calorimeter was performed with the mixture of biomass/diesel, discounting the heating values of each auxiliary fuel. Protein content was calculated using a conversion factor of 6.25 g g⁻¹ of nitrogen content into protein according to AOAC (2000). The specialized literature for the microalgae genus identification was the third edition of the catalog of microalgae strains (Torres et al., 2021).

The biomass assimilated phosphorus was measured by the difference between the total phosphorus from the HRAP and the soluble phosphorus from the decanter, considering that the remaining suspended phosphorus is presented in the biomass. Similarly, the assimilated nitrogen was measured through the difference between the TKN of the HRAP and the ammonia nitrogen of the decanter.

2.2 Statistical analysis

After verifying the data normality using the Shapiro-Wilk test, the analysis of variance by the Anova/Tukey (parametric) or Kruskal-Wallis (non-parametric) methods was used to test the occurrence of a significant difference at 5 % of probability between the phases. The tendency and interaction of nutrient removal were verified through the Mann-Kendall analysis at a significance level of 0.05. Statistical analysis was performed using R Studio and Statistica software.

3 Results and discussion

3.1 HRAP monitoring

Table 2. Monitoring of temperature and pH between phases.

	Air temperature (°C)			Cultivation temperature (°C)			HRAP pH	Std. Dev.
	Max.	Min.	Mean	Max.	Min.	Mean	Mean	
Phase 1	30.5	17.9	24.7	29.4	21.7	26.1	7.07	0.6
Phase 2	23.3	14.1	19.1	23.2	17.4	21.2	6.48	0.3
Phase 3	23.8	10.3	17.2	29.9	27.6	28.6	6.13	0.1
Phase 4	31.4	18.7	24.5	31.5	27.9	30	6.45	0.5

Max. – maximum; Min. – minimum; Std. Dev. – standard deviation.

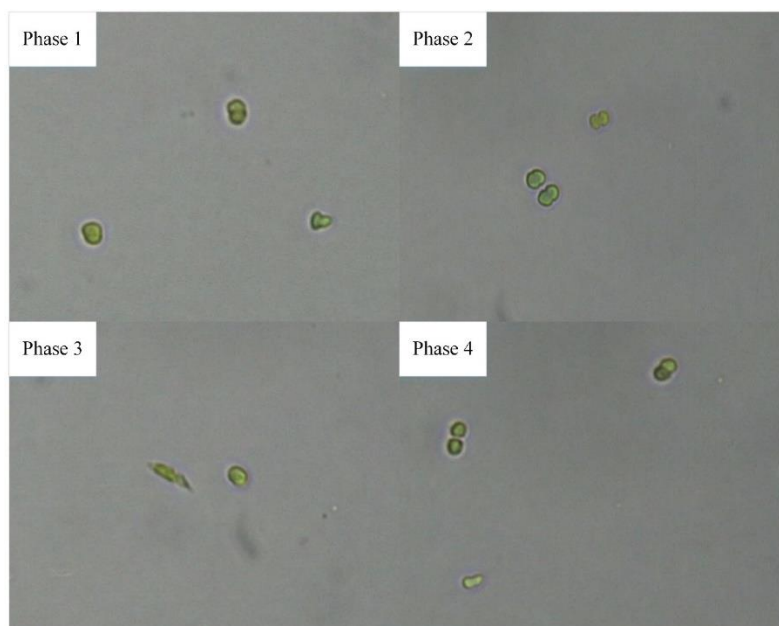
Source: From the author (2022).

The operation stages with non-controlled temperature throughout the day (Table 2), phases 1 and 2, recorded an average of 26.1 and 21.2 °C, respectively. At these temperatures, no damage to culture growth is reported, as shown by many studies in the literature (Binnal and Babu, 2017; García-Cubero et al., 2018; Suthar and Verma, 2018). The heaters installed in phases 3 and 4 provided average temperatures values inside the HRAP of 28.6 and 30 °C, respectively. Among the phases, the lowest pH was 6.13 (0.1) and the highest 7.07 (0.6), not directly influencing the nutrient removal mechanisms, as discussed in section 3.3.

3.2 Biomass production

The genus *Chlorella* sp. was predominantly in all the operation stages, with the occurrence of *Scenedesmus* sp. during phase 3 only (Figure 2).

Figure 2. Genus of microalgae observed in each operational phase. A 40x objective lens was used.



Source: From the author (2022).

Table 3. Biomass production (mean values and standard deviation in parentheses).

	Cell count	Chlorophyll- <i>a</i>	Primary productivity (chl <i>a</i>)	VSS	Total biomass productivity
	(cell mL ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(g m ⁻² d ⁻¹)	(mg L ⁻¹)	(g m ⁻² d ⁻¹)
Phase 1	1.60E+06 ^B (3.73E+05)	3.66 ^A (0.46)	0.13 ^A (0.02)	133.57 ^A (6.11)	4.85 ^A (0.22)
Phase 2	8.01E+05 ^A (1.94E+05)	0.59 ^B (0.08)	0.04 ^B (0.01)	40.70 ^B (7.61)	2.96 ^B (0.55)
Phase 3	8.39E+05 ^A (1.24E+05)	1.37 ^{BC} (0.18)	0.10 ^{BC} (0.01)	65.93 ^B (4.71)	4.79 ^C (0.34)
Phase 4	1.84E+06 ^B (5.00E+05)	3.19 ^{AC} (0.62)	0.12 ^{AC} (0.02)	130.71 ^A (24.01)	4.75 ^{AC} (0.87)

In the column, the mean followed by the same letter has no statistical difference at 5 %. VSS - volatile suspended solids.

Source: From the author (2022).

Comparing phases 1 and 4 with 10 days of HRT, no difference was observed between variable temperatures or maintenance at 28 °C concerning all variables, as shown in Table 3. Among conditions with 5 days of HRT, phases 2 and 3 presented different values only for total biomass productivity of 2.96 (0.55) e 4.79 (0.34) mg L⁻¹, respectively, indicating a beneficial effect with cultivation at a constant temperature of 28 °C. In addition, during phase 2 the temperature reached values close to 17 °C, affecting the culture growth. Liu et al. (2017) cited that, similar to irradiance, microalgae and bacteria have higher growth rates with increasing temperature until their optimal range. In this study, this effect was only observed for the HRAP that operates with 5 days of HRT. Santiago et al. (2013) when operating an HRAP under 4 days of HRT and variable temperature throughout the day, fed with domestic sewage from the UASB reactor, obtained chlorophyll-*a* and VSS concentrations of 1.5 (1.2) and 152 (57) mg L⁻¹, respectively. These values were higher than observed during phase 2 of this study, 0.59 (0.08) and 40.70 (7.61) mg L⁻¹, respectively.

When comparing phases 1 and 2 with variable temperature, a statistical difference was observed for the variables chlorophyll-*a*, cell count, VSS, primary, and total biomass productivities, with greater values found for phase 1, 3.66 (0.46) mg L⁻¹; 1.60E+06 (3.73E+05) cell mL⁻¹; 133.57 (6.11) mg L⁻¹; 0.13 (0.02) g m⁻² d⁻¹; 4.85 (0.22) g m⁻² d⁻¹, respectively. Thus, in HRAP, with temperature variation throughout the day, longer HRTs positively influenced biomass production.

Long HRT directly influences the greater degradation of organic matter by bacteria. Due to degradation, CO₂ is released for microalgal photosynthesis. In addition, the longer time improves the assimilation of nutrients and the microalgae culture adaptation to the effluent conditions, which can contain toxic substances discharged from teaching and research facilities in a university, such as chemical products from the laboratories and the university's veterinary hospital. In comparison, Alalawy et al. (2019) using hospital effluent with concentrations of 5 and 25 %, observed the need for 12 HRT days to adapt the culture of *Chlorella* sp. at 32 °C. Kim et al. (2014) suggested keeping HRT long enough to optimize the growth rate.

Regarding operational stages with different HRTs and temperature maintenance at 28 °C, phase 4 presented cell count values and VSS concentration equal to 1.84E+06 (5.00E+05) cell mL⁻¹ and 130.71 (24.01) mg L⁻¹, respectively. However, between phases 3 and 4, no statistical difference was observed concerning primary and total biomass productivities, showing the benefit of temperature control for lower HRT operation. Babel et al. (2002) cultivating *Chlorella* sp., obtained an optimal growth range during indoor cultivation with an average temperature of 26 °C. At higher temperature values, i.e., above 35 °C, the authors reported a 40 % decline in the growth rate. In turn, investigating microalgae species for outdoor cultivation, Varshney et al. (2015) observed that the optimal temperature for *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. growth is between 28 and 32 °C.

3.3 Nutrient removal

Table 4. Characterization of the HRAP input (influent) and output (effluent), removal efficiency, and nutrients assimilation in each operational phase (mean values and standard deviation in parentheses).

		Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4
N-NH ₃	Influent	19.60 ^{AB} (2.47)	17.55 ^A (2.42)	10.27 ^C (0.66)	14.55 ^{BC} (3.53)
	Effluent	1.87 (0.66)	4.11 (0.51)	3.36 (1.41)	5.04 (2.04)
	% Removal	89.86 ^A (5.48)	76.28 ^{AB} (4.09)	67.64 ^{BC} (11.83)	64.22 ^C (16.98)
COD	Influent	160.55 ^{AB} (107.68)	53.97 ^{AC} (18.17)	69.87 ^{CD} (30.29)	126.54 ^{BD} (58.59)
	Effluent	83.70 (92.11)	26.42 (4.07)	18.80 (8.08)	33.81 (15.79)

	% Removal	54.41 ^{AB} (18.32)	47.55 ^A (15.77)	72.94 ^C (1.53)	73.33 ^{BC} (4.91)
Total P	Influent	3.73 ^A (0.65)	4.97 ^{BC} (0.63)	4.77 ^C (0.88)	6.18 ^D (0.42)
	Effluent	2.15 (0.36)	3.95 (0.15)	4.01 (0.35)	4.80 (0.34)
	% Removal	42.39 ^A (5.76)	19.93 ^B (6.73)	14.49 ^{BC} (11.50)	22.08 ^{AC} (6.93)
Assimilated P	HRAP	1.48 ^{AB} (1.31)	1.01 ^{AC} (0.95)	0.84 ^C (0.15)	2.53 ^B (0.53)
Assimilated N	HRAP	1.69 ^{AB} (0.90)	2.36 ^{AC} (1.31)	1.56 ^{CD} (0.63)	2.98 ^{BD} (1.35)
Nitrate	HRAP	27.74 ^A (3.77)	32.07 ^B (2.10)	22.43 ^C (0.13)	23.14 ^C (0.18)

N-NH₃, COD, total P, assimilated P, assimilated N, and nitrate – mg L⁻¹. In the line, the mean followed by the same letter has no statistical difference at 5 %.

Source: From the author (2022).

3.3.1 Organic matter

When comparing phases 1 and 4, 2 and 3 with the same HRT condition and phases 1 and 2, 3 and 4 with the same temperature condition, there was no difference in the COD concentration at the entrance of the HRAP (influent). Regarding phases 2 and 3 with HRT of 5 days, the highest removal occurred under the temperature maintenance at 28 °C with 74.94 (1.53) %. This removal efficiency was statistically equal to the same temperature condition and HRT of 10 days (phase 4), demonstrating that temperature maintenance can be an important factor for the removal of organic matter in HRAP, offsetting the adoption of lower HRT values and, consequently the lower area demand of the WWTP. The temperature maintenance can increase the heterotrophic bacteria metabolism,

compensating for the lower HRT, as seen between phases 3 and 4. COD removals at controlled temperature were higher than in the literature. Arashiro et al. (2019) obtained a removal efficiency of 62 % with an HRT of 4.5 days and variable temperature throughout the day. On the other hand, in the present study, the values found when the temperature varied throughout the day for the HRT of 10 and 5 days were, respectively, 54.41 (18.32) and 47.55 (15.77) %.

Although the increase in temperature to 28 °C provided greater efficiency in the removal of organic matter, as observed during phases 3 and 4, high temperatures can be harmful to the removal of COD in HRAP. Xu et al. (2019), culturing microalgae with municipal effluent, post-treated in an anaerobic pond, observed that under a temperature of 35 °C, stress conditions occurred, resulting in the excretion of extracellular polymeric substances by microalgae and so influencing the efficiency of COD removal. According to the authors, COD removal was constant at 60 % from the 6th until the 10th day of cultivation, showing no difference between the 6 and 10 days of HRT, similar to the operation and statistical results of phases 3 and 4.

Studies reported that the interaction between microalgae and bacteria could contribute to COD removal during wastewater treatment (Wang et al., 2016; Zhu et al., 2013). Via photosynthesis, microalgae can provide oxygen for aerobic bacteria to biodegrade organic matter and, in turn, simple organic molecules are broken down, and microalgae use the CO₂ released by bacteria. Qi et al. (2021) corroborated, citing that COD is mainly oxidized by the bacterial community and not by the microalgae community.

3.3.2 Nitrogen

According to previous reports (García et al., 2000; Nurdogan and Oswald, 1996; Picot et al., 1991), nitrification (carried out by nitrifying autotrophic bacteria), biomass assimilation (conversion of ammonia to organic nitrogen), and removal by volatilization (when the pH is greater than 9) were considered the main mechanisms of nitrogen removal in HRAP.

In HRT of 10 days, the temperature variation throughout the day (phase 1) showed a higher ammonia nitrogen removal value and a statistical difference compared to temperature maintenance at 28 °C (phase 4). Removals were respectively 89.86 (5.48) and 64.22 (16.98) % for phases 1 and 4, demonstrating no efficiency gain with constant

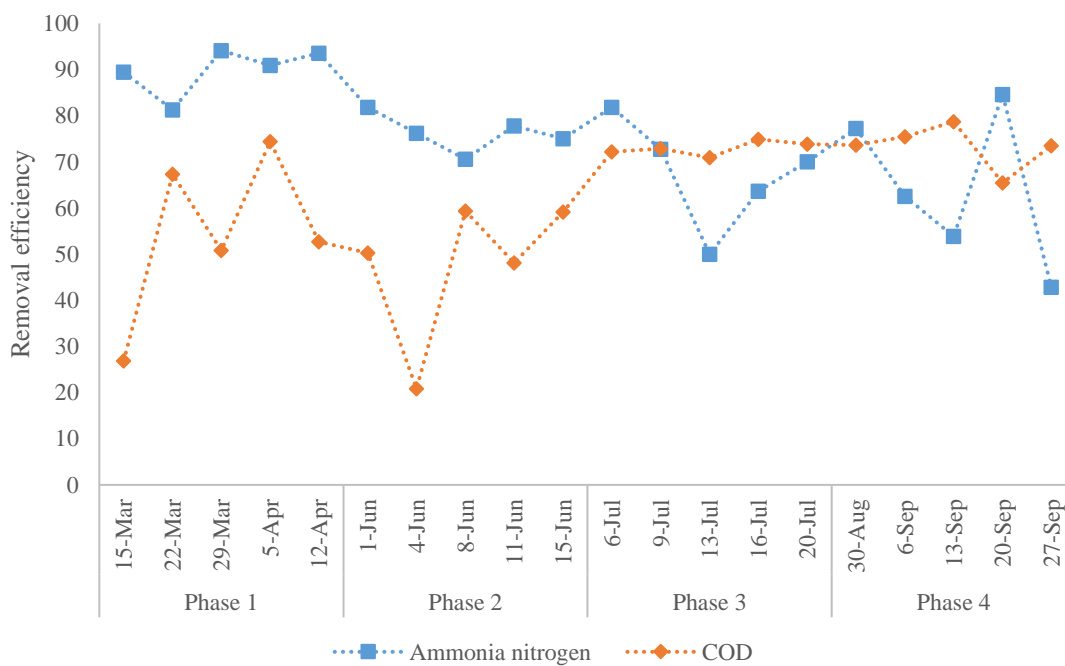
temperature maintenance. de Godos et al. (2016) operating HRAP with HRT of 7 days and pos-UASB reactor effluent, showed removal efficiency of 94 %, higher than the value of the present study during phase 1. There was no difference between the HRT of 10 and 5 days with temperature variation throughout the day. Phase 2 with 5 days of HRT showed 76.28 (4.09) % removal efficiency, indicating that lower HRT values can be adopted for ammonia nitrogen removal and that the operation can be done without temperature control. Lower and close removal efficiencies were found in both HRT, 5 and 10 days, when the temperature was maintained at 28 °C, with 67.64 (11.83) and 64.22 (16.98) %, respectively. Therefore, the HRT did not influence ammonia nitrogen removal between phases 1 and 2 and phases 3 and 4. On the Other hand, Sutherland et al. (2018) reported that the HRAP operating with HRT of 4 days, compared to HRT of 8 days, presented higher microalgae productivity, lower bacterial productivity, and consequently lower nitrification rates.

The literature shows that the decrease or low nitrogen concentration is a limiting factor for culture growth and biomass productivity (van Vooren et al., 2012; Yang et al., 2018; Yodsuwan et al., 2017). The concentration of ammonia nitrogen from the UASB reactor (influent) during phases 1, 2, 3 and 4 were, respectively, 19.60 (2.47), 17.55 (2.42), 10.27 (0.66) and 14.55 (3.53) mg L⁻¹. Other studies carried out by Couto et al. (2021), Assemany et al. (2015b) and Santiago et al. (2013) showed values of 53.1 (2.8), 39.82 (13.1) e 40 (13) mg L⁻¹ for UASB reactor effluent. Larsdotter (2006) stated that in HRAP, nitrogen is limiting for culture growth when carbon and light are not limiting.

The observed pH within the HRAP in all phases showed that the transformation of ammonia nitrogen to free ammonia and consequently removal through volatilization was limited. Furthermore, Mathew et al. (2022) considered that volatilization in ponds is less significant than nitrogen removal by biological activities. The nitrate values in the culture medium shown in Table 3 illustrated that nitrification through the transformation of ammonia to nitrite and then to nitrate by the nitrifying bacteria community was the main mechanism for ammonia nitrogen transformation. It is important to highlight that nitrate formation does not result in nitrogen removal from the effluent; being characterized as a transformation mechanism (García et al., 2000). Considering biomass assimilation, no statistical difference in phases 1, 2, 3 and 4 was observed, with values of 1.69 (0.90), 2.36 (1.31), 1.56 (0.63), and 2.98 (1.35) mg L⁻¹, respectively.

Fallahi et al. (2021) showed that heterotrophic bacteria, if in greater quantity, can consume the available oxygen and nutrients, causing a reduction in the population of nitrifying bacteria and decreasing the efficiency of nitrogen removal via nitrification. Arcila and Buitrón (2016) also mentioned that competition dynamics between autotrophic (nitrifying) and heterotrophic bacteria is related to the limitation of dissolved oxygen. Since heterotrophic bacteria have a maximum growth rate of five times higher than autotrophic nitrifying bacteria, organic matter removal occurs before nitrification. According to Antoniou et al. (1990), the nitrification efficiency depends on the relatively low growth rate of nitrifying bacteria, especially *Nitrosomonas* sp., corroborating the lower nitrate concentrations compared to the increase in COD removal efficiency. As shown in Figure 3, during phases 3 and 4, COD removal efficiency remained stable and sometimes higher than ammonia nitrogen removal.

Figure 3. Removal efficiency (%) of N-NH₃ and COD removal throughout the phases.



Source: From the author (2022).

Despite the nitrogen data showing that on some occasions, the removal of ammonia nitrogen was greater than that of COD during phase 4, the Mann-Kendall analysis showed values of -0.56 (p-value = 0.0013) and 0.48 (p-value = 0.0057) for ammonia nitrogen and

COD, respectively. Thus, the COD removal tended to increase throughout the phases, while for ammonia nitrogen, the opposite occurred.

3.3.3 Phosphorus

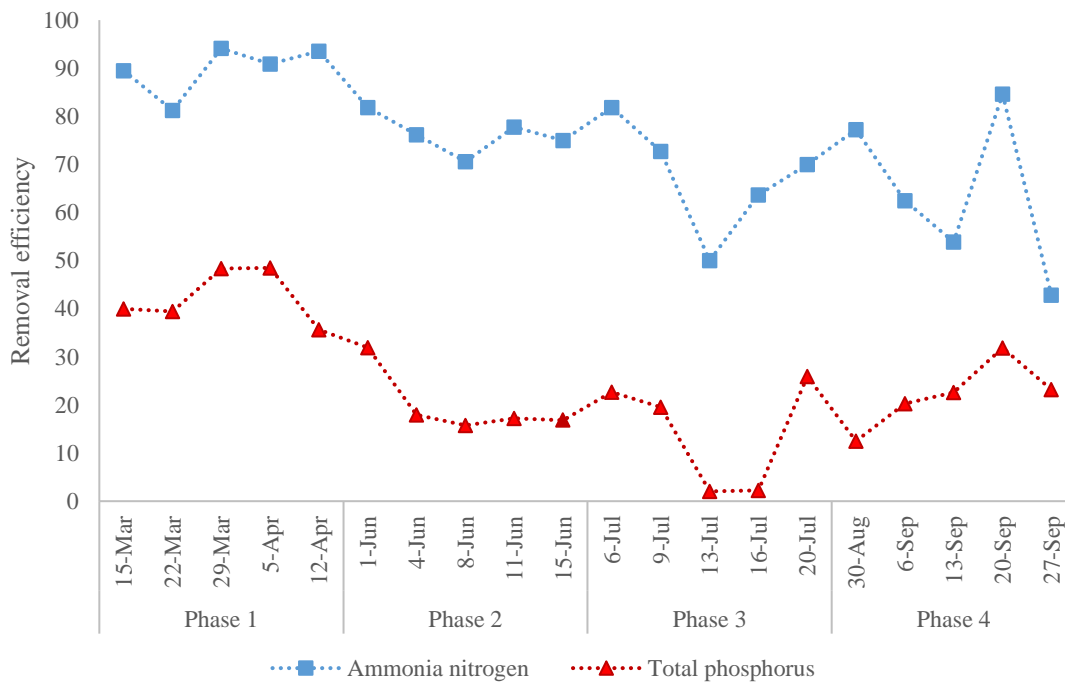
The temperature variation throughout the day showed a difference between the HRT of 10 and 5 days for total phosphorus, with removal values of 42.39 (5.76) and 19.93 (6.73) %, respectively, for phases 1 and 2, indicating the positive effect of higher HRT while operating without temperature control. Cromar and Fallowfield (1997) observed that the increase in HRT from 4 to 7 days favored phosphorus removal in HRAP, varying from 17 to 45 %. The authors described the influence of a low C:N:P ratio (9:7:1) on the reported removal efficiencies, similar to phase 2 removal, with a C:N:P ratio of 11:3:1. On the contrary, in post-treated municipal effluent at a primary level, Arcila and Buitrón (2016) showed higher removal values than phases 1 and 2. The authors reported 49 and 29 % phosphate removals for HRAP operating with 10 and 6 days of HRT, respectively. However, the authors considered that the removal efficiencies were low due to the effluent's N/P ratio (4.5). In the present study, when maintaining the temperature at 28 °C with HRT of 5 and 10 days, no statistical difference was observed for total phosphorus removal efficiencies. In this way, it was observed that temperature control was beneficial for lower HRT adoption, reflecting in area savings for the HRAP, as well as observed for the COD removal (section 3.3.1).

Phases 2 and 3 showed the same removal under 5 days of HRT, regardless of the temperature regime. Similarly, the temperature control showed no influence when the HRAP was operated with HRT of 10 days, with statistically identical results for phases 1 and 4. Therefore, it can be highlighted that the HRT was the most crucial parameter for the total phosphorus removal in HRAP compared to the temperature maintenance or variation throughout the day.

The average N/P atomic ratios for phases 1, 2, 3, and 4 were 11.6, 7.8, 4.9, and 5.5, respectively. Sutherland et al. (2015) described that ratios below 10 indicate nitrogen limitation and contribute to the low efficiency of phosphorus removal, corroborating the statistical difference found only between phases 1 and 2 in the present study. Pham et al. (2018) showed that, at pH lower than 7 and N/P ratio of 9.2 (HRT of 4 days) and 6.7 (HRT of 8 days), the total phosphorus removal efficiencies were 13.9 (13.6) and 4.7 (7.9)

%, respectively. The Mann-Kendall tendency analysis throughout the phases (Fig. 4) presented values of -0.56 (p-value = 0.0013) and -0.043 (p-value = 0.043) for the ammonia nitrogen and total phosphorus removal efficiencies, respectively. Therefore, throughout the operational phases, there was a decreased tendency of the removal efficiency of both variables, showing a relationship with the decrease in the N/P ratios.

Figure 4. Removal efficiency (%) of N-NH₃ and total phosphorus removal throughout the phases.



Source: From the author (2022).

Phosphorus removal via assimilation differed only between phases 3 and 4, with temperature maintained at 28 °C and HRT of 5 and 10 days, with 0.84 (0.15) and 2.53 (0.53) mg L⁻¹, respectively. However, the higher phosphorus assimilation did not influence the primary or total biomass productivity. According to Zhou et al. (2006), the assimilation of organic phosphate and chemical precipitation contribute to the greater removal of total phosphorus in HRAP. Due to the pH values found in all operational phases, precipitation removal did not occur.

Morales-Amaral et al. (2015) showed that phosphorus could precipitate in the form of calcium phosphate in alkaline conditions, causing problems for cultivation. On the Other hand, Ación-Fernández et al. (2018) mentioned that phosphorus precipitation does not cause damage if assimilated and removed within the biomass.

3.4 Biomass characterization

Table 5. Biochemical characterization of the biomass, in percentage (mean values and standard deviation in parentheses).

	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4
Carbohydrates (% wt) ^a	19.61 (2.78)	15.46 (3.56)	13.01 (2.64)	18.41 (7)
Proteins (% wt) ^a	10.69 (0.19)	5.14 (1.13)	13.06 (0.95)	9.19 (2.19)
Neutral lipids (% wt) ^a	1.61 (0.58)	3.29 (0.54)	3.30 (1.07)	4.48 (1.06)
Polar lipids (% wt) ^a	9.79 (2.52)	5.97 (0.03)	10.91 (0.82)	9.62 (1.07)
Ash (% wt) ^a	-	57.72 (0.44)	56.07 (0.19)	58.30 (0.28)
Moisture (% wt) ^a	-	8.18 (0.06)	7.99 (0.02)	9.41 (0.05)
HHV	-	20.13 (0.2)	18.99 (0.23)	19.96 (0.46)

^adry basis. HHV – Higher heating value in kJ g⁻¹ and ash-free value.

Source: From the author (2022).

3.4.1 Carbohydrates

According to Table 5, the carbohydrate contents showed similar values between the operational phases, highlighting the highest values of phases 1 and 4 in HRT of 10 days, with 19.61 (2.78) and 18.41 (7) %, respectively. In addition, temperature maintenance at 28 °C had a negative influence on the biomass accumulation of carbohydrates. Arcila and Buitrón (2016) studying HRAP with HRTs of 6 and 10 days, observed that the

carbohydrate content increased with increasing HRT, corroborating the results of HRT of 10 and 5 days conditions. Chen et al. (2014) showed a carbohydrate composition of 23.6 % in biomass cultivated in domestic effluent treatment. Similarly, Passos et al. (2014) obtained 20 % of this component under an HRT of 8 days and primary domestic effluent. The literature showed that, in general, the microalgae carbohydrate content is 20% and may vary according to the microalgae species, conditions, and time of cultivation (Laurens et al., 2014, 2012; Zhao et al., 2013). Cultivation conditions include nutrient deprivation (mainly nitrogen and phosphorus), light intensity, light/dark cycle and CO₂ concentration (Zhu et al., 2014).

3.4.2 Proteins

The concentration of protein content varied between phases 1 and 4 from 5.14 (1.3) to 13.06 (0.95) %, respectively. At variable temperature, the HRT of 10 days presented a higher protein content than 5 days of HRT, 10.69 (0.19) and 5.14 (1.13) %, respectively. Conversely, the temperature maintenance at 28 °C resulted in higher protein content in HRT of 5 days compared to HRT of 10 days, respectively 13.06 (0.95) and 9.19 (2.19) %. According to Choudhary et al. (2020), the values found in the literature for the protein content can vary between 20 and 30% in dry biomass. The authors also reported that the high nitrogen concentration in the culture medium, as in most effluents and domestic sewage, is related to the high protein content. Despite the higher values of phases 1 and 3, the protein contents are well below that reported by Y. Lu et al. (2015) and Q. Lu et al. (2015) of 60.87 and 68.65 %, respectively.

Using domestic sewage in HRAP and the genus *Chlorella* and *Scenedesmus*, Passos et al. (2014) and Kinnunen et al. (2014) showed 49 and 41 % protein content, respectively. Khan et al. (2018) described that the decrease in protein content decreases cell growth and, consequently, biomass production, confirming the primary and total biomass productivities obtained in HRT of 5 days with temperature varying throughout the day (section 3.2).

Metsoviti et al. (2019) showed that there was no significant difference between the temperatures of 24 (1.1) and 28.5 (2.9) °C regarding the protein content for the species *C. vulgaris*, *B. braunii*, *C. reinhardtii*, *N. oculata*, *E. gracilis*. The authors reported that the protein content is negatively affected by the low concentration of available nitrogen, as it

is necessary for protein synthesis, in addition to the greater resistance to temperature changes due to being an essential structural and metabolic component for microalgae cells. The availability of ammonia nitrogen between phases 2 and 3 was statistically different, as shown in Table 4, justifying the difference in protein content. However, as discussed in section 3.3.3, from phase 2 onwards, ammonia nitrogen was already limited in the HRAP, and maintaining the temperature at 28 °C during phase 4 directly influenced the protein synthesis.

3.4.3 Lipids

The neutral lipid content observed in phases 1 and 2 was 1.61 (0.58) and 3.29 (0.54) %, respectively. Ferro et al. (2018) and Kudahettige et al. (2018) reported that greater lipid accumulation could occur when nutrients in the culture medium are limited, as occurred from phase 2 onwards. According to Yao et al. (2015), the formation and accumulation of lipids vary between 20 and 50% in this condition. The temperature maintenance did not influence the neutral lipid content since, in HRT of 5 days, the obtained values were close in both temperature conditions. The difference observed for HRT of 10 days may be related to nutrient limitation.

The inverse of all cases for neutral lipids was observed for the polar lipids content. No significant variation between phases 1 and 4 was found. However, the polar lipid content was approximately 85% higher in phase 3 than in phase 2, in which the HRT was 5 days under different temperature regimes, with almost the exact content of neutral lipids.

Using microalgae predominantly from the genus *Chlorella* sp. grown in HRAP, Ramluckan et al. (2014) showed extraction above 10% for lipids using ethanol and hexane in an optimal time of 3 hours using the Soxhlet methodology. In the present study, the extraction of neutral lipids occurred for 5 hours and showed low lipid contents, as shown in Table 5. Phukan et al. (2011) and Ryckebosch et al. (2012) mentioned that after 3 hours, the formation of volatile products and a decrease in the extraction efficiency could occur, causing degradation and decrease in the amount of extracted lipids. Also, for Mehrabadi et al. (2015), the low lipid content of biomass cultivated in HRAP with effluent is related to the presence of bacteria/microalgae consortia.

Studies carried out by Pereira et al. (2019) showed that the lipid content was affected due to the presence of large amounts of ash. In addition, the lipid content is dependent on the

nitrogen content within the microalgal cell (González-Fernández et al., 2010). For Mohan and Devi (2014), temperature is an important factor for lipid synthesis. According to Sibi et al. (2016), the total lipid content increases as the temperature increases to the ideal level at which the highest biomass production is achieved. In the present study, during phase 2, the lowest average temperature (21.2 °C) in the cultivation was observed, with the lowest productivity of 2.96 (0.55) g m⁻² d⁻¹ and, consequently, the polar lipid content was 5.97 (0.03) %.

Converti et al. (2009) investigated the temperature variation between 20 and 25 °C concerning the lipid content of *N. oculata* and *C. vulgaris*. The authors observed that an increase in temperature resulted in a drop in lipid content for *C. vulgaris*, while for *N. oculata*, the increase in temperature resulted in 2-fold higher lipid content, from 7.90 to 14.92%. Subhash et al. (2014) observed a 5-fold increase in neutral lipid content at a high temperature of 30 °C in microalgal culture during wastewater treatment. Woertz et al. (2009) reported lipid contents of biomass cultivated in municipal effluent from 4.9 to 11.3% for *Chlorella* sp. and *Scenedesmus* sp. genus. The authors reported higher lipid productivity with CO₂ addition and HRT of 3 days despite the low contents.

3.4.5 Ash

During HRAP operations, regardless of the temperature regime or HRT, the highest ash content was observed in biomass from phase 2, 3 and 4 of 57.72 (0.44), 56.07 (0.19) and 58.30 (0.28) %, respectively.

Assemany et al. (2018) showed a high ash content of 43 % in the biomass grown in HRAP with effluent from the UASB reactor. According to the authors, depending on the reactor operation, the accumulation of anaerobic sludge can bring large amounts of inorganic material to the cultivation. In addition to the need for sludge disposal, Couto et al. (2020) reported the absence of treatment to remove sand before the UASB reactor. de Assis et al. (2020) also mentioned that the high ash content in the biomass is related to the use of effluents as a culture medium and the accumulation of fixed solids.

3.4.6 Higher heating value

Similar values were identified in phases 2, 3 and 4 of 20.13 (0.2), 18.99 (0.23) and 19.96 (0.46) kJ g⁻¹, respectively. Ghayal and Pandya (2013) showed an HHV of 17.6 kJ g⁻¹ for the genera *Chlorella* sp. with an ash content of 30.5 %, lowest to the ones found in the biomass from all phases. The authors suggested the addition of 50 % microalgae to 50 % coal for application as solid fuel, resulting in an HHV of 22.2 kJ g⁻¹. Choi et al. (2019) also cited the replacement of woody biomass by microalgae in the coal/biomass mixture due to the greater calorific value of microalgae biomass. In addition, the co-combustion of the coal/microalgae biomass mixture could reduce ash and sulfur contents and improve combustion efficiency.

3.4.7 Biomass valorization

The energetic valorization through conventional biochemical methods such as anaerobic digestion or fermentation of microalgal biomass, with a carbohydrate content of 24 to 30% in carbohydrate content, can produce biofuels such as biogas and bioethanol (Chen et al., 2013). Therefore, the carbohydrate content from phases 1 and 4 could be used for anaerobic digestion, in addition to not requiring the total biomass drying. Silveira et al. (2021) suggested using biomass for animal feed since carbohydrates constitute part of the dietary and energy storage. However, Choudhary et al. (2017) highlighted the need to identify and remove pathogens and other toxic compounds that may be present in the biomass, mainly when cultivated in effluents.

Among the thermochemical conversion techniques for bio-oil obtention are hydrothermal liquefaction (HTL) and pyrolysis (Chen et al., 2015). The HTL uses heat and wet biomass, presenting the advantage of cost reduction, and eliminating the drying step. Despite the low lipids content of all phases, Couto et al. (2018) using the biomass produced in domestic effluent, reported that for the composition containing 23.3 % of lipids, the HTL process at 300 °C and 30 minutes of reaction time showed a bio-oil yield of 44.4 % in dry and ash-free base. In this sense, Jena et al. (2011) obtained a bio-oil with an HHV of 35.25 kJ g⁻¹ using *Spirulina platensis* biomass through hydrothermal liquefaction. In addition to the participation of lipids in the reactions, the carbohydrate and protein content increases the bio-oil yield (Couto et al., 2020).

Campanella et al. (2012) using the microalgae *Scenedesmus* sp., obtained through pyrolysis a bio-oil yield of 16 – 22 % wt, with an HHV of 19 kJ g⁻¹. The main disadvantage of direct combustion of biomass and pyrolysis is the drying step, increasing the costs of the process (Kumar et al., 2017).

4 Conclusion

Better results for primary and total biomass productivities and phosphorus removal were achieved for HRT of 10 days, not requiring temperature control at 28 °C in microalgae cultivation with wastewater treatment plant effluent in HRAP. Regardless of the HRT, while the highest COD removal occurred with temperature maintenance around 28 °C, the variation of temperature throughout the day can be adopted for the highest ammonia nitrogen removal.

The biomass characterization showed a high ash content, inherent to the type of culture medium used in the HRAP. Higher HRT without temperature maintenance resulted in the highest carbohydrate and protein accumulation. Moreover, the biomass characterization showed interesting contents for energy conversions, such as anaerobic digestion.

Finally, it can be concluded that temperature maintenance at 28 °C can be an important factor for removing organic matter in HRAP, offsetting the adoption of lower HRT values and, consequently, the lower area demand of the system. At variable temperatures throughout the day, the lowest HRT of 5 days can also be adopted for the greater ammonia nitrogen removal. Regarding the HRT evaluation, 10 days showed an advantage concerning higher biomass productivity, phosphorus removal, and biochemical contents of the harvested biomass.

Acknowledgments

This work has been financially supported by the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq), Brazil (Grant numbers 404980/2016-3 and 303909/2019-6).

References

Acién-Fernández, F.G., Gómez-Serrano, C., Fernández-Sevilla, J.M., 2018. Recovery of Nutrients From Wastewaters Using Microalgae. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 2. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00059>

Alalawy, A.I.A., Sh Alabdraba, W.M., Omer, E.A., 2019. Nutrients and organic matters removal of ospitals wastewater by microalgae. *Journal of Physics: Conference Series* 1294, 072002. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1294/7/072002>

American Public Health Association - APHA, 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association.

Antoniou, P., Hamilton, J., Koopman, B., Jain, R., Holloway, B., Lyberatos, G., Svoronos, S.A., 1990. Effect of temperature and ph on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Water Research* 24, 97–101. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90070-M](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90070-M)

AOAC, 2000. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington.

Arashiro, L.T., Ferrer, I., Rousseau, D.P.L., van Hulle, S.W.H., Garfí, M., 2019. The effect of primary treatment of wastewater in high rate algal pond systems: Biomass and bioenergy recovery. *Bioresource Technology* 280, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.096>

Arcila, J.S., Buitrón, G., 2016. Microalgae-bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 91, 2862–2870. <https://doi.org/10.1002/jctb.4901>

Assemany, P.P., Calijuri, M.L., Couto, E. de A. do, de Souza, M.H.B., Silva, N.C., Santiago, A. da F., Castro, J. de S., 2015a. Algae/bacteria consortium in high rate ponds:

Influence of solar radiation on the phytoplankton community. *Ecological Engineering* 77, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.01.026>

Assemany, P.P., Calijuri, M.L., do Couto, E. de A., da Silva, F.P., de Souza, M.H.B., 2018. Energy recovery in high rate algal pond used for domestic wastewater treatment. *Water Science and Technology* 78, 12–19. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.570>

Assemany, P.P., Calijuri, M.L., do Couto, E. de A., Santiago, A.F., dos Reis, A.J.D., 2015b. Biodiesel from wastewater: lipid production in high rate algal pond receiving disinfected effluent. *Water Science and Technology* 71, 1229–1234. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.087>

Babel, S., Takizawa, S., Ozaki, H., 2002. Factors affecting seasonal variation of membrane filtration resistance caused by *Chlorella* algae. *Water Research* 36, 1193–1202. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00333-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00333-5)

Beckstrom, B.D., Wilson, M.H., Crocker, M., Quinn, J.C., 2020. Bioplastic feedstock production from microalgae with fuel co-products: A techno-economic and life cycle impact assessment. *Algal Research* 46, 101769. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101769>

Binnal, P., Babu, P.N., 2017. Optimization of environmental factors affecting tertiary treatment of municipal wastewater by *Chlorella protothecoides* in a lab scale photobioreactor. *Journal of Water Process Engineering* 17, 290–298. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.05.003>

Campanella, A., Muncrief, R., Harold, M.P., Griffith, D.C., Whitton, N.M., Weber, R.S., 2012. Thermolysis of microalgae and duckweed in a CO₂-swept fixed-bed reactor: Bio-oil yield and compositional effects. *Bioresource Technology* 109, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.115>

Chen, C.-Y., Zhao, X.-Q., Yen, H.-W., Ho, S.-H., Cheng, C.-L., Lee, D.-J., Bai, F.-W., Chang, J.-S., 2013. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal* 78, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.006>

Chen, W.-H., Lin, B.-J., Huang, M.-Y., Chang, J.-S., 2015. Thermochemical conversion of microalgal biomass into biofuels: A review. *Bioresource Technology* 184, 314–327. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.050>

Chen, W.-T., Zhang, Y., Zhang, J., Yu, G., Schideman, L.C., Zhang, P., Minarick, M., 2014. Hydrothermal liquefaction of mixed-culture algal biomass from wastewater treatment system into bio-crude oil. *Bioresource Technology* 152, 130–139. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.111>

Choi, H. il, Lee, J.S., Choi, J.W., Shin, Y.S., Sung, Y.J., Hong, M.E., Kwak, H.S., Kim, C.Y., Sim, S.J., 2019. Performance and potential appraisal of various microalgae as direct combustion fuel. *Bioresource Technology* 273, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.030>

Choudhary, P., Malik, A., Pant, K.K., 2020. Exploration of a novel biorefinery based on sequential hydrolysis and anaerobic digestion of algal biofilm: a comprehensive characterization of products for energy and chemical production. *Sustainable Energy & Fuels* 4, 1481–1495. <https://doi.org/10.1039/C9SE00939F>

Choudhary, P., Prajapati, S.K., Kumar, P., Malik, A., Pant, K.K., 2017. Development and performance evaluation of an algal biofilm reactor for treatment of multiple wastewaters and characterization of biomass for diverse applications. *Bioresource Technology* 224, 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.078>

Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., del Borghi, M., 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48, 1146–1151. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006>

Couto, E., Calijuri, M.L., 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, M.L., Assemany, P., Cecon, P.R., 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, E.A., Pinto, F., Varela, F., Reis, A., Costa, P., Calijuri, M.L., 2018. Hydrothermal liquefaction of biomass produced from domestic sewage treatment in high-rate ponds. *Renewable Energy* 118, 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.041>

Craggs, R., Park, J., Sutherland, D., Heubeck, S., 2015. Economic construction and operation of hectare-scale wastewater treatment enhanced pond systems. *Journal of Applied Phycology* 27, 1913–1922. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0658-6>

Cromar, N.J., Fallowfield, H.J., 1997. Effect of nutrient loading and retention time on performance of high rate algal ponds. *Journal of Applied Phycology* 9, 301–309. <https://doi.org/10.1023/A:1007917610508>

Daiek, C., Liao, W., Liu, Y., 2022. Effects of water recirculation on microalgae assemblage and corresponding sustainability of the photobioreactor cultivation system. *Biomass and Bioenergy* 157, 106326. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106326>

de Assis, L.R., Calijuri, M.L., Assemany, P.P., Silva, T.A., Teixeira, J.S., 2020. 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* 274, 111183. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111183>

de Godos, I. de, Blanco, S., García-Encina, P.A., Becares, E., Muñoz, R., 2009. Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. *Bioresource Technology* 100, 4332–4339. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.04.016>

de Godos, I., Arbib, Z., Lara, E., Rogalla, F., 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource Technology* 220, 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.056>

de Godos, I., Blanco, S., García-Encina, P.A., Becares, E., Muñoz, R., 2010. Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algae ponds treating agro-industrial wastewaters. *Journal of Hazardous Materials* 179, 1049–1054. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.112>

Ding, Y., Sun, Y., Feng, D., Liu, X., Song, X., 2021. Synergistic Effects of High Rate Algal Pond and Submerged Macrophyte Pond on Constructed Wetland for Water Purification. *Polish Journal of Environmental Studies* 30, 4887–4893. <https://doi.org/10.15244/pjoes/134086>

Fallahi, A., Rezvani, F., Asgharnejad, H., Khorshidi Nazloo, E., Hajinajaf, N., Higgins, B., 2021. Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: A review. *Chemosphere* 272, 129878. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129878>

Ferro, L., Gentili, F.G., Funk, C., 2018. Isolation and characterization of microalgal strains for biomass production and wastewater reclamation in Northern Sweden. *Algal Research* 32, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.006>

García, J., Mujeriego, R., Hernández-Mariné, M., 2000. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology* 12, 331–339. <https://doi.org/10.1023/A:1008146421368>

García-Cubero, R., Moreno-Fernández, J., Acién-Fernández, F.G., García-González, M., 2018. How to combine CO₂ abatement and starch production in *Chlorella vulgaris*. *Algal Research* 32, 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.006>

Ghayal, M.S., Pandya, M.T., 2013. Microalgae Biomass: A Renewable Source of Energy. *Energy Procedia* 32, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2013.05.031>

González-Fernández, C., Molinuevo-Salces, B., García-González, M.C., 2010. Open and enclosed photobioreactors comparison in terms of organic matter utilization, biomass chemical profile and photosynthetic efficiency. *Ecological Engineering* 36, 1497–1501. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.07.007>

Jena, U., Das, K.C., Kastner, J.R., 2011. Effect of operating conditions of thermochemical liquefaction on biocrude production from *Spirulina platensis*. *Bioresource Technology* 102, 6221–6229. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.057>

Jenkins, S.N., Paredes-Valdivia, C.A., Waite, I.S., Ayre, J., Moheimani, N., Barton, L., Abbott, L.K., 2017. Assessing the suitability of microalgae biomass produced from piggery waste as a fertiliser. *Animal Production Science* 57, 2480. <https://doi.org/10.1071/ANv57n12Ab051>

Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E.A., Embiruçu, M., Ghirardi, M.L., 2010. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource Technology* 101, 1406–1413. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.09.038>

Khan, M.I., Shin, J.H., Kim, J.D., 2018. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories* 17, 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>

Kim, H.-C., Choi, W.J., Ryu, J.H., Maeng, S.K., Kim, H.S., Lee, B.-C., Song, K.G., 2014. Optimizing Cultivation Strategies for Robust Algal Growth and Consequent Removal of Inorganic Nutrients in Pretreated Livestock Effluent. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 174, 1668–1682. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1145-2>

Kinnunen, V., Craggs, R., Rintala, J., 2014. Influence of temperature and pretreatments on the anaerobic digestion of wastewater grown microalgae in a laboratory-scale accumulating-volume reactor. *Water Research* 57, 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.043>

Kudahettige, N.P., Pickova, J., Gentili, F.G., 2018. Stressing Algae for Biofuel Production: Biomass and Biochemical Composition of *Scenedesmus dimorphus* and *Selenastrum minutum* Grown in Municipal Untreated Wastewater. *Frontiers in Energy Research* 6. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00132>

Kumar, G., Shobana, S., Chen, W.-H., Bach, Q.-V., Kim, S.-H., Atabani, A.E., Chang, J.-S., 2017. A review of thermochemical conversion of microalgal biomass for biofuels: chemistry and processes. *Green Chemistry* 19, 44–67. <https://doi.org/10.1039/C6GC01937D>

Lam, M.K., Lee, K.T., 2012. Potential of using organic fertilizer to cultivate *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Applied Energy* 94, 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.01.075>

Larsdotter, K., 2006. Wastewater treatment with microalgae—a literature review. *Vatten* 62, 31–38.

Laurens, L.M.L., Dempster, T.A., Jones, H.D.T., Wolfrum, E.J., van Wychen, S., McAllister, J.S.P., Rencenberger, M., Parchert, K.J., Gloe, L.M., 2012. Algal Biomass Constituent Analysis: Method Uncertainties and Investigation of the Underlying Measuring Chemistries. *Analytical Chemistry* 84, 1879–1887. <https://doi.org/10.1021/ac202668c>

Laurens, L.M.L., van Wychen, S., McAllister, J.P., Arrowsmith, S., Dempster, T.A., McGowen, J., Pienkos, P.T., 2014. Strain, biochemistry, and cultivation-dependent measurement variability of algal biomass composition. *Analytical Biochemistry* 452, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2014.02.009>

Liu, J., Wu, Y., Wu, C., Muylaert, K., Vyverman, W., Yu, H.-Q., Muñoz, R., Rittmann, B., 2017. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review. *Bioresource Technology* 241, 1127–1137. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.054>

Lu, Q., Zhou, W., Min, M., Ma, X., Chandra, C., Doan, Y.T.T., Ma, Y., Zheng, H., Cheng, S., Griffith, R., Chen, P., Chen, C., Urriola, P.E., Shurson, G.C., Gislerød, H.R., Ruan, R., 2015. Growing *Chlorella* sp. on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology* 198, 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.133>

Lu, Y., Levine, R.B., Savage, P.E., 2015. Fatty Acids for Nutraceuticals and Biofuels from Hydrothermal Carbonization of Microalgae. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 54, 4066–4071. <https://doi.org/10.1021/ie503448u>

Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, Nidia.S., 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14, 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>

Mathew, M.M., Khatana, K., Vats, V., Dhanker, R., Kumar, R., Dahms, H.-U., Hwang, J.-S., 2022. Biological Approaches Integrating Algae and Bacteria for the Degradation of Wastewater Contaminants—A Review. *Frontiers in Microbiology* 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.801051>

Matos, A.T., 2012. *Qualidade Do Meio Fisico Ambiental - Praticas De Laboratorio*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Mehrabadi, A., Craggs, R., Farid, M.M., 2015. Wastewater treatment high rate algal ponds (WWT HRAP) for low-cost biofuel production. *Bioresource Technology* 184, 202–214. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.004>

Metsoviti, M.N., Katsoulas, N., Karapanagiotidis, I.T., Papapolymerou, G., 2019. Effect of nitrogen concentration, two-stage and prolonged cultivation on growth rate, lipid and protein content of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 94, 1466–1473. <https://doi.org/10.1002/jctb.5899>

Mohan, S.V., Devi, M.P., 2014. Salinity stress induced lipid synthesis to harness biodiesel during dual mode cultivation of mixotrophic microalgae. *Bioresource Technology* 165, 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.103>

Mohsenpour, S.F., Hennige, S., Willoughby, N., Adeloje, A., Gutierrez, T., 2021. Integrating micro-algae into wastewater treatment: A review. *Science of The Total Environment* 752, 142168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142168>

Morales-Amaral, M. del M., Gómez-Serrano, C., Acien-Fernández, F.G., Fernández-Sevilla, J.M., Molina-Grima, E., 2015. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. *Algal Research* 12, 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.020>

Nederlands Norm (NEN 6520), 1981. Water: Spectrophotometric Determination of Chlorophyll a Content. The Netherlands.

Nurdogan, Y., Oswald, W.J., 1996. Tube settling of high-rate pond algae. *Water Science and Technology* 33, 229–241. <https://doi.org/10.2166/wst.1996.0142>

Nusch, E., 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol* 14, 14–36.

Park, J.B.K., Craggs, R.J., 2010. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology* 61, 633–639. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.951>

Passos, F., Hernández-Mariné, M., García, J., Ferrer, I., 2014. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. *Water Research* 49, 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.013>

Pereira, H., Silva, J., Santos, T., Gangadhar, K.N., Raposo, A., Nunes, C., Coimbra, M.A., Gouveia, L., Barreira, L., Varela, J., 2019. Nutritional Potential and Toxicological Evaluation of *Tetraselmis* sp. CTP4 Microalgal Biomass Produced in Industrial Photobioreactors. *Molecules* 24, 3192. <https://doi.org/10.3390/molecules24173192>

Pham, L.A., Laurent, J., Bois, P., Wanko, A., 2018. Impacts of operational conditions on oxygen transfer rate, mixing characteristics and residence time distribution in a pilot scale

high rate algal pond. *Water Science and Technology* 78, 1782–1791.
<https://doi.org/10.2166/wst.2018.461>

Phukan, M.M., Chutia, R.S., Konwar, B.K., Kataki, R., 2011. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Applied Energy* 88, 3307–3312.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.026>

Picot, B., el Halouani, H., Casellas, C., Moersidik, S., Bontoux, J., 1991. Nutrient Removal by High Rate Pond System in a Mediterranean Climate (France). *Water Science and Technology* 23, 1535–1541. <https://doi.org/10.2166/wst.1991.0607>

Qi, F., Jia, Y., Mu, R., Ma, G., Guo, Q., Meng, Q., Yu, G., Xie, J., 2021. Convergent community structure of algal–bacterial consortia and its effects on advanced wastewater treatment and biomass production. *Scientific Reports* 11, 21118.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-00517-x>

Ramluckan, K., Moodley, K.G., Bux, F., 2014. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel* 116, 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.118>

Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., Bux, F., 2011. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88, 3411–3424.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.025>

Ryckebosch, E., Muylaert, K., Foubert, I., 2012. Optimization of an Analytical Procedure for Extraction of Lipids from Microalgae. *J Am Oil Chem Soc* 89, 189–198.
<https://doi.org/10.1007/s11746-011-1903-z>

Salama, E.-S., Kurade, M.B., Abou-Shanab, R.A.I., El-Dalatony, M.M., Yang, I.-S., Min, B., Jeon, B.-H., 2017. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 79, 1189–1211. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.091>

Santiago, A.F., Calijuri, M.L., Assemany, P.P., Calijuri, M. do C., Reis, A.J.D. dos, 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>

Sibi, G., Shetty, V., Mokashi, K., 2016. Enhanced lipid productivity approaches in microalgae as an alternate for fossil fuels – A review. *Journal of the Energy Institute* 89, 330–334. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2015.03.008>

Silveira, C.F., Assis, L.R. de, Oliveira, A.P. de S., Calijuri, M.L., 2021. Valorization of swine wastewater in a circular economy approach: Effects of hydraulic retention time on microalgae cultivation. *Science of The Total Environment* 789, 147861. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147861>

Singh, S.P., Singh, P., 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 50, 431–444. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>

Solé-Bundó, M., Garfí, M., Matamoros, V., Ferrer, I., 2019. Co-digestion of microalgae and primary sludge: Effect on biogas production and microcontaminants removal. *Science of The Total Environment* 660, 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.011>

Subhash, G.V., Rohit, M.V., Devi, M.P., Swamy, Y.V., Venkata Mohan, S.V., 2014. Temperature induced stress influence on biodiesel productivity during mixotrophic microalgae cultivation with wastewater. *Bioresource Technology* 169, 789–793. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.019>

Suthar, S., Verma, R., 2018. Production of *Chlorella vulgaris* under varying nutrient and abiotic conditions: A potential microalga for bioenergy feedstock. *Process Safety and Environmental Protection* 113, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.09.018>

Sutherland, D.L., Heubeck, Stephan., Park, Jason., Turnbull, M.H., Craggs, R.J., 2018. Seasonal performance of a full-scale wastewater treatment enhanced pond system. *Water Research* 136, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.046>

Sutherland, D.L., Howard-Williams, C., Turnbull, M.H., Broady, P.A., Craggs, R.J., 2015. Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 184, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.074>

Takabe, Y., Hidaka, T., Tsumori, J., Minamiyama, M., 2016. Effects of hydraulic retention time on cultivation of indigenous microalgae as a renewable energy source using secondary effluent. *Bioresource Technology* 207, 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.132>

Torres, G.F., Bermejo-Padilla, E., Pittman, J., Theodoropoulos, C., 2021. Microalgae strain catalogue: A strain selection guide for microalgae users: cultivation and chemical characteristics for high added-value products. *EnhanceMicroAlgae*, Manchester.

van Vooren, G., le Grand, F., Legrand, J., Cuiné, S., Peltier, G., Pruvost, J., 2012. Investigation of fatty acids accumulation in *Nannochloropsis oculata* for biodiesel application. *Bioresource Technology* 124, 421–432. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.009>

Varshney, P., Mikulic, P., Vonshak, A., Beardall, J., Wangikar, P.P., 2015. Extremophilic micro-algae and their potential contribution in biotechnology. *Bioresource Technology* 184, 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.040>

Viswanaathan, S., Perumal, P.K., Sundaram, S., 2022. Integrated Approach for Carbon Sequestration and Wastewater Treatment Using Algal–Bacterial Consortia: Opportunities and Challenges. *Sustainability* 14, 1075. <https://doi.org/10.3390/su14031075>

Wang, Y., Ho, S.-H., Cheng, C.-L., Guo, W.-Q., Nagarajan, D., Ren, N.-Q., Lee, D.-J., Chang, J.-S., 2016. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial

wastewater treatment. *Bioresource Technology* 222, 485–497.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.106>

Whitton, R., Ometto, F., Pidou, M., Jarvis, P., Villa, R., Jefferson, B., 2015. Microalgae for municipal wastewater nutrient remediation: mechanisms, reactors and outlook for tertiary treatment. *Environmental Technology Reviews* 4, 133–148.
<https://doi.org/10.1080/21622515.2015.1105308>

Woertz, I., Feffer, A., Lundquist, T., Nelson, Y., 2009. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. *Journal of Environmental Engineering* 135, 1115–1122.
[https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000129](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000129)

Xu, K., Zou, X., Wen, H., Xue, Y., Qu, Y., Li, Y., 2019. Effects of multi-temperature regimes on cultivation of microalgae in municipal wastewater to simultaneously remove nutrients and produce biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, 8255–8265. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10051-6>

Yang, L., Chen, J., Qin, S., Zeng, M., Jiang, Y., Hu, L., Xiao, P., Hao, W., Hu, Z., Lei, A., Wang, J., 2018. Growth and lipid accumulation by different nutrients in the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biotechnology for Biofuels* 11, 40.
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1041-z>

Yao, L., Gerde, J.A., Lee, S.-L., Wang, T., Harrata, K.A., 2015. Microalgae Lipid Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 1773–1787.
<https://doi.org/10.1021/jf5050603>

Yodsuwan, N., Sawayama, S., Sirisansaneeyakul, S., 2017. Effect of nitrogen concentration on growth, lipid production and fatty acid profiles of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Agriculture and Natural Resources* 51, 190–197.
<https://doi.org/10.1016/j.anres.2017.02.004>

Zhao, C., Brück, T., Lercher, J.A., 2013. Catalytic deoxygenation of microalgae oil to green hydrocarbons. *Green Chemistry* 15, 1720. <https://doi.org/10.1039/c3gc40558c>

Zhou, Q., He, S.L., He, X.J., Huang, X.F., Picot, B., Li, X.D., Chen, G., 2006. Nutrients removal mechanisms in high rate algal pond treating rural domestic sewage in East China. *Water Supply* 6, 43–50. <https://doi.org/10.2166/ws.2006.956>

Zhu, L., Wang, Z., Shu, Q., Takala, J., Hiltunen, E., Feng, P., Yuan, Z., 2013. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research* 47, 4294–4302. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.004>

Zhu, S., Wang, Y., Huang, W., Xu, Jin, Wang, Z., Xu, Jingliang, Yuan, Z., 2014. Enhanced Accumulation of Carbohydrate and Starch in *Chlorella zofingiensis* Induced by Nitrogen Starvation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 174, 2435–2445. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1183-9>