

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA (PEQ-UFS)

YASMIN OLIVEIRA CARVALHO

ESTUDO E MODELAGEM DO TRATAMENTO DE EFLUENTE LÍQUIDO
UTILIZANDO MICROALGA *Chlorella vulgaris*

São Cristóvão (SE)

(2019)

YASMIN OLIVEIRA CARVALHO

ESTUDO E MODELAGEM DO TRATAMENTO DE EFLUENTE LÍQUIDO
UTILIZANDO MICROALGA *Chlorella vulgaris*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cristina Ferraz Silva

Coorientador: Prof. Dr. Rogério Luz Pagano

São Cristóvão (SE)

(2019)

C331e Carvalho, Yasmin Oliveira
Estudo e modelagem do tratamento de efluente líquido utilizando microalga *Chlorella vulgaris* / Yasmin Oliveira Carvalho ; orientador Cristina Ferraz Silva. – São Cristóvão, SE, 2019.
82 f.: il.

Dissertação (mestrado em Engenharia química) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Engenharia química. 2. Resíduos industriais. 3. Microalga. 4. Biomassa. 5. Redes neurais. I. Silva, Cristina Ferraz, orient. II. Título.

CDU 66.011

YASMIN OLIVEIRA CARVALHO

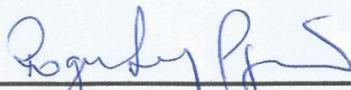
ESTUDO E MODELAGEM DO TRATAMENTO DE EFLUENTE LÍQUIDO
UTILIZANDO MICROALGA *Chlorella vulgaris*

Dissertação de Mestrado aprovada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
da Universidade Federal de Sergipe em 29 de julho de 2019.

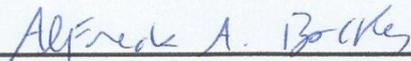
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr.ª Cristina Ferraz Silva – Orientadora
Universidade Federal de Sergipe – UFS



Prof. Dr. Rogério Luz Pagano – Coorientador
Universidade Federal de Sergipe – UFS



Prof. Dr. Alfredo Acosta Backes – Examinador Externo
Universidade Federal de Sergipe – UFS



Prof. Dr. Rodolpho Rodrigues Fonseca – Examinador Interno
Universidade Federal de Sergipe – UFS

Dedico esta conquista a minha mãe, Maria, pelo amor incondicional, e ao amor da minha vida, Thiago, por me incentivar em cada passo que decido dar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pois sem ele esta caminhada não seria possível. Por sempre me ouvir e me amparar, me permitir realizar sonhos, me impulsionar para nunca desistir. Obrigada, Senhor, por cada momento difícil ter evidenciado sinais de que não estou sozinha.

À minha mãe, Maria Josefina de Oliveira Carvalho, por ser minha melhor amiga, por me dar os melhores conselhos, por me apoiar, torcer e vibrar em cada conquista minha.

Ao meu noivo, Thiago Oliveira Fontes, por sonhar todos os meus sonhos junto comigo e me ajudar a realizá-los. Por toda paciência, compreensão, companheirismo e por não medir esforços para me fazer sempre feliz.

À minha orientadora, Cristina Ferraz Silva, por toda dedicação ao meu trabalho, pelos ensinamentos, paciência, e principalmente pela amizade. Por fazer todo seu trabalho com amor! Ao meu coorientador, Rogério Luz Pagano, por dedicar muito do seu tempo ao meu trabalho, me ensinar tudo passo a passo, e insistir até que tudo desse certo.

Aos meus companheiros de laboratório, Diego, Sheila e Weverton, por cada auxílio, não só durante o trabalho, mas também durante os momentos de desabafo. Por nunca hesitar em cada ajuda solicitada.

Ao meu amigo de escola, Bruno, por cada incentivo e preocupação. Aos amigos da graduação, Felipe N. e Jéssica, por estarem presentes em cada passo dessa caminhada, e ao amigo do mestrado, Adriano, por cada palavra de incentivo.

A CAPES pelo financiamento da bolsa de mestrado e colaboração científica e ao suporte técnico-científico da UFS, em especial a todos os funcionários da ETE.

Enfim, a todos e a todas que contribuíram direta e indiretamente para a elaboração deste trabalho.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou.”

(Eclesiastes 3:1,2)

RESUMO

O tratamento terciário proporcionado pelas microalgas se apresenta como um processo rentável e promissor, aliando a remoção dos principais nutrientes causadores da eutrofização à produção de biomassa valiosa. Devido à característica não linear apresentada pelos processos biotecnológicos, é possível modelar esses processos a partir de ferramentas como o Planejamento Experimental e as Redes Neurais Artificiais, podendo prever o comportamento das principais variáveis em processos de tratamento de efluentes. O tratamento terciário promovido pela microalga *Chlorella vulgaris* apresentou altas remoções de nutrientes, acima de 70% de fosfato e 99% de íon amônio. Com base na remoção de nutrientes, realizou-se a modelagem do processo por meio de duas ferramentas: o Planejamento Experimental e as Redes Neurais Artificiais. O modelo matemático fornecido pelo Planejamento Experimental foi representativo do tratamento terciário de efluente sanitário com a microalga *C. vulgaris* em função das variáveis de teste. Já o ótimo desempenho da rede neural artificial, com R^2 de teste superior a 0,95 permite o uso desta ferramenta em aplicações reais, como no sistema de controle em Estações de Tratamento de Efluentes. Com o intuito de promover um tratamento sustentável, realizou-se a secagem natural da biomassa, a qual apresentou composição centesimal de 29% de carboidratos solúveis, 11% de lipídios e 8,7% de proteínas. A biomassa produzida possui alto valor agregado e pode ser destinada para produção de biocombustíveis ou ração animal. Com isso, o tratamento terciário de efluente com microalgas é uma ótima alternativa de tratamento sustentável e de baixo custo, podendo ser utilizado em Estações de Tratamento de Efluentes. O processo visa reduzir as contaminações dos recursos hídricos e eutrofização dos corpos d'água, além dos impactos econômicos e ambientais gerados pela biomassa produzida.

Palavras-chave: tratamento terciário; microalgas; redes neurais.

ABSTRACT

The tertiary treatment provided by microalgae is presented as a profitable and promising process, combining the removal of the main nutrients causing eutrophication to the production of valuable biomass. Due to the nonlinear characteristic presented by biotechnological processes, it is possible to model these processes from tools such as Experimental Design and Artificial Neural Networks, and can predict the behavior of the main variables in wastewater treatment processes. The tertiary treatment promoted by the microalgae *Chlorella vulgaris* showed high nutrient removals, above 70% of phosphate and 99% of ammonium ion. Based on nutrient removal, the process was modeled through two tools, Experimental Design and Artificial Neural Networks. The mathematical model provided by the Experimental Design was representative of the tertiary treatment of sanitary effluent with the *C. vulgaris* microalgae as a function of the test variables. The optimum performance of the artificial neural network, with R^2 of test higher than 0.95 allows the use of this tool in real applications, as in the control system in wastewater treatment plants. In order to promote a sustainable treatment, natural biomass drying was performed, which presented centesimal composition of 29% of soluble carbohydrates, 11% of lipids and 8.7% of proteins. The biomass produced has high added value and can be destined for the production of biofuels or animal feed. Thus, the tertiary treatment of effluent with microalgae is a great alternative for sustainable and low-cost treatment and can be used in wastewater treatment plants. The process aims to reduce the contamination of water resources and eutrophication of the bodies, in addition to the economic and environmental impacts generated by the biomass produced.

Keywords: tertiary treatment; microalgae; neural networks.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrão de lançamento de efluentes em corpos d'água.	21
Tabela 2 - Níveis codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental DCCR 2 ⁵	49
Tabela 3 - Critérios de parada de treinamento da RNA.	50
Tabela 4 - Resultados de remoção de DQO por microalga <i>C. vulgaris</i>	54
Tabela 5 - Matriz de experimentos DCCR 2 ⁵ para tratamento terciário de efluente sanitário com <i>C. vulgaris</i>	55
Tabela 6 - Efeitos significativos da Análise de variância (ANOVA) para o tratamento terciário de efluentes com <i>C. vulgaris</i>	56
Tabela 7 - Resultados estatísticos obtidos a partir dos modelos de secagem nas diferentes espessuras de biomassa.	64
Tabela 8 - configurações de RNA para o tratamento terciário de efluentes com <i>C. vulgaris</i> . .	81
Tabela 9 - Matriz de pesos, W1: Pesos entre camadas de entrada e ocultas; W2: Pesos entre camadas ocultas e saídas (<i>Chlorella vulgaris</i>).	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de um neurônio artificial (Fonte: adaptado de HAYKIN, 2003)	32
Figura 2 - Ponto de coleta do efluente em reator UASB de tratamento secundário na ETE da UFS. (Fonte: Arquivos do autor).....	38
Figura 3 - Imagem microscópica da microalga da espécie <i>Chlorella vulgaris</i> com 40x de aumento. (Fonte: Arquivos do autor)	39
Figura 4 - Tratamento terciário de efluente com microalga <i>Chlorella vulgaris</i> contendo 20 L de efluente e 2 L de inóculo em cada tanque. (Fonte: Arquivos do autor).....	40
Figura 5 - Frascos com biomassa microalgal para procedimento de secagem ao ar livre. (Fonte: Arquivos do autor)	44
Figura 6 - Planejamento experimental DCCR do tratamento terciário de efluente com microalga. (Fonte: Arquivos do autor)	48
Figura 7 - Curva da cinética de crescimento microalgal durante o tratamento terciário do efluente no período do verão (a) e inverno (b).	51
Figura 8 - Curva da cinética de remoção de fosfato por microalga no verão (a) e inverno (b).52	
Figura 9 - Curva da cinética de remoção de íon amônio por microalga no verão (a) e inverno (b)	53
Figura 10 - Superfície de resposta para a remoção de íon amônio em função dos níveis de pH e fosfato iniciais.....	58
Figura 11 - Superfície de resposta para a remoção de fosfato em função dos níveis de pH e fosfato iniciais.	58
Figura 12 - Superfície de resposta para a remoção de DQO em função dos níveis de luz e íon amônio iniciais.....	59
Figura 13 - Superfície de resposta para o crescimento de biomassa em função dos níveis de luz e biomassa iniciais.	59
Figura 14 - Variação do MSE de treinamento (a) e teste (b) sobre a influência do número de neurônios para a RNA com uma camada oculta.....	60
Figura 15 - Arquitetura de RNA para predição do tratamento terciário de efluente com <i>C. vulgaris</i>	61
Figura 16 - Gráfico de dispersão no treinamento da RNA para o conjunto de dados medidos e previstos de remoção de íon amônio (a) e fosfato (b).	61

Figura 17 - Gráfico de dispersão no teste da RNA para o conjunto de dados medidos e previstos de remoção de íon amônio (a) e fosfato (b).	62
Figura 18 - Curvas do adimensional de umidade das amostras de <i>Chlorella vulgaris</i> em função do tempo para secagem natural.....	63
Figura 19 - Ajuste dos modelos de secagem aos dados experimentais para espessura de biomassa de 1 cm (a) e 2 cm (b).....	64
Figura 20 - Composição centesimal da biomassa de <i>Chlorella vulgaris</i>	65
Figura 21 - Curva padrão de peso seco de biomassa de <i>C. vulgaris</i>	78
Figura 22 - Curva padrão de determinação de fosfato.....	78
Figura 23 - Curva padrão de determinação de íon amônio.....	78
Figura 24 - Curva padrão de determinação da DQO.	79
Figura 25 - Curva padrão de determinação de carboidratos.	79
Figura 26 - Curva padrão de determinação de glicose.	79
Figura 27 - Curva padrão de determinação de proteínas.	80
Figura 28 - Comparação entre os dados reais e os dados preditos pela RNA no ensaio de treinamento.	81
Figura 29 - Comparação entre os dados reais e os dados preditos pela RNA no ensaio de teste.....	81

LISTA DE SÍMBOLOS

B_i	Biomassa inicial
CB%	Crescimento de biomassa
CO ₂	Dióxido de Carbono
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<i>C. vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNS	Determinação de açúcares redutores
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETEs	Estações de Tratamento de Efluentes
MSE	Erro médio quadrático
N	Nitrogênio
NH ₄ ⁺	Íon Amônio
P	Fósforo
PO ₄ ³⁻	Fosfato
RDQO%	Remoção de DQO
RN%	Remoção de íon amônio
RNAs	Redes Neurais Artificiais
RP%	Remoção de fosfato
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
UFS	Universidade Federal de Sergipe

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo Geral.....	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1. Tratamento de efluentes	19
3.1.1. Tratamento terciário de efluentes utilizando microalgas.....	21
3.2. Biologia das microalgas.....	23
3.2.1. Fases de crescimento	23
3.2.2. <i>Chlorella vulgaris</i>	24
3.3. Formas de cultivo de microalgas	25
3.4. Coleta da biomassa microalgal	26
3.5. Secagem da biomassa microalgal	27
3.5.1. Cinética de Secagem.....	28
3.6. Outras aplicações da biomassa microalgal	29
3.7. Redes neurais artificiais	32
3.7.1. Neurônio Artificial	32
3.7.2. Funções de ativação.....	33
3.7.3. Arquiteturas de RNAs	33
3.7.4. Aprendizado.....	34
3.7.5. Algoritmo <i>Levenberg-Marquardt</i>	35
3.7.6. Aplicações das RNAs	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS	38

4.1.	Efluente sanitário	38
4.2.	<i>Chlorella vulgaris</i>	38
4.2.1.	Inóculo	39
4.3.	Tratamento terciário.....	39
4.3.1.	Crescimento da biomassa microalgal	40
4.4.	Análises físico-químicas do efluente sanitário	41
4.4.1.	pH	41
4.4.2.	DQO	41
4.4.3.	Fosfato	42
4.4.4.	Íon amônio.....	42
4.5.	Coleta da biomassa	43
4.6.	Secagem da biomassa	43
4.7.	Análises físico-químicas da biomassa microalgal	44
4.7.1.	Sólidos totais	44
4.7.2.	Cinzas	45
4.7.3.	Sólidos voláteis.....	45
4.7.4.	Proteínas	45
4.7.5.	Carboidratos totais.....	46
4.7.6.	Glicose	46
4.7.7.	Lipídios.....	47
4.8.	Modelagem do Tratamento Terciário com Microalga	48
4.8.1.	Planejamento experimental.....	48
4.8.2.	Treinamento da rede neural	49
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1.	Análise do tratamento terciário com microalga.....	51
5.2.	Modelagem do tratamento terciário com microalga.....	54
5.2.1.	Planejamento Experimental.....	54

5.2.2. Rede Neural	60
5.3. Destinação da biomassa microalgal	62
5.3.1. Secagem da biomassa microalgal	62
5.3.2. Caracterização e possíveis destinos da biomassa microalgal	64
6. CONCLUSÃO	68
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
APÊNDICE A	78
APÊNDICE B.....	81

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial tem acarretado grandes quantidades de resíduos e conseqüentemente a busca por novas técnicas de tratamento de efluentes. As Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs), com isso, necessitam cada vez mais de processos eficientes para garantir a preservação dos recursos hídricos. Um desses processos é o tratamento terciário, responsável pela remoção das altas concentrações de nutrientes inorgânicos, como o fósforo (P) e nitrogênio (N), os quais representam sérios riscos de contaminação quando lançados em grandes quantidades nos corpos d'água. Diante disso, se de um lado os métodos físico-químicos usuais de tratamento terciário possuem altos custos e, por isso, são pouco utilizados. Por outro lado, as microalgas surgem como uma alternativa interessante de tratamento terciário de águas residuais (ARBIB *et al.*, 2014).

As microalgas são seres fotossintetizantes, cultivadas utilizando água, gás carbônico, uma fonte luminosa e um meio rico em nutrientes. Todavia, é possível substituir o meio de cultivo sintético de alto custo pelo efluente sanitário, uma vez que a capacidade de consumo de nutrientes como P e N torna as microalgas uma ótima alternativa para promover o tratamento terciário de efluentes e, assim, combater o processo de eutrofização dos corpos hídricos. Conseqüentemente, a utilização de efluentes torna o cultivo das microalgas eficiente, sustentável e de baixo custo (CHEW *et al.*, 2017; GALARZA *et al.*, 2016).

Além da remoção de nutrientes, a biomassa gerada no processo possui custo de produção irrelevante e pode ser associada a uma fonte de renda ao considerar um destino útil para a mesma (MUJTABA e LEE, 2017). Dentre os destinos da biomassa, a produção de biocombustíveis foi vista inicialmente como ótima alternativa. Mas, atualmente suas aplicações visam principalmente à utilização de seus compostos na química fina ou produção de antioxidantes, além da suplementação alimentar humana e animal (CHEW *et al.*, 2017).

Para garantir a obtenção da biomassa e o bom funcionamento das ETEs é possível associar ferramentas matemáticas capazes de prever o desempenho dos processos com base em observações de parâmetros chave. Uma técnica de controle e otimização ainda pouco explorada por estações de tratamento é a inteligência artificial, com destaque para as Redes Neurais Artificiais (RNAs). As RNAs são técnicas computacionais com capacidade de aprendizagem através de treinamento, que tem despertado interesse para previsão e controle

de inúmeros processos (PINHEIRO *et al.*, 2017). Elas representam uma ótima alternativa de previsão do efluente tratado tendo como base o fluxo de resíduos iniciais. Nesse caso, o bom desempenho das RNAs está em sua capacidade de prever comportamentos não lineares e complexos como os processos químicos, físicos e biológicos envolvidos nas etapas do tratamento de efluentes (HAMED *et al.*, 2004). Sendo assim, argumentamos no sentido de que unir o tratamento terciário de efluentes com microalgas ao treinamento de uma RNA se mostra uma ótima estratégia, principalmente para o aumento de escala, pois ao fornecer os novos parâmetros de entrada do efluente é possível prever as características do efluente ao final do tratamento.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho visa aplicar um método sustentável de tratamento terciário de efluente sanitário com a utilização de microalga e o treinamento de uma rede neural artificial para predição da composição final do efluente ao final do tratamento.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar o efluente sanitário, antes e após o tratamento, quanto às propriedades físico-químicas;
- Avaliar a redução das concentrações de nutrientes e carga orgânica do efluente sanitário no período de verão e inverno;
- Verificar a eficiência e demais rendimentos calculados para o processo de remoção de nutrientes;
- Realizar um estudo da remoção dos nutrientes no efluente e crescimento da biomassa a partir de um planejamento experimental;
- Treinar uma Rede Neural Artificial com dados de tratamento terciário de efluente com *Chlorella vulgaris* e testar seu desempenho.
- Utilizar o processo de secagem natural para secar a biomassa microalgal proveniente do tratamento terciário;
- Identificar a correlação semi-empírica que melhor se ajusta aos dados de secagem;
- Caracterizar a biomassa seca obtida quanto a sua composição centesimal e com base nisso propor destinos úteis para sua futura aplicação.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Tratamento de efluentes

O tratamento de efluente consiste na remoção de impureza das águas antes de seu descarte em corpos naturais de água, ou seja, aqueles que compreendem rios, lagos, mares, dentre outros. A poluição das águas é causada principalmente pelo lançamento de água residual contaminada em corpos d'água superficial ou subterrâneo, por isso torna-se indispensável o tratamento de qualquer efluente antes do seu descarte (AMBULKAR e NATHANSON, 2018).

Os efluentes possuem três classificações: os efluentes domésticos ou sanitários, os industriais e os pluviais. Geralmente, os efluentes sanitários são compostos de materiais orgânicos putrescíveis, nutrientes vegetais e microrganismos patogênicos (AMBULKAR e NATHANSON, 2018). Já os efluentes industriais apresentam características específicas, a depender do segmento da indústria a qual pertence e, em sua maioria, são compostos por metais pesados e corantes (SIVALINGAM e SEM, 2018). E os efluentes pluviais, provenientes das águas de chuva, contêm muitos restos orgânicos como folhas, além de embalagens diversas, papéis em geral, entre outros (ARCHELA *et al.*, 2003).

A quantidade de matéria orgânica do esgoto é contabilizada pela demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que representa a quantidade de oxigênio requerida pelos microrganismos para decompor as substâncias orgânicas presentes no efluente. A DBO está entre os parâmetros mais importantes para o projeto e operação de estações de tratamento de águas residuais, e pode ser relacionada à demanda química de oxigênio (DQO) por meio de razões simples. Para efluentes de origem doméstica a razão DQO/DBO varia entre 1,7 a 2,4 (ALBUQUERQUE *et al.*, 2009; AMBULKAR e NATHANSON, 2018).

Os sólidos suspensos também representam um parâmetro importante dos efluentes, pois está relacionado ao volume de lodo produzido. A remoção, tanto da DBO quanto da quantidade de sólidos suspensos, representa a eficiência do processo de tratamento. Os efluentes sanitários também apresentam alta carga de nutrientes como o fósforo (P) e o nitrogênio (N), causadores da eutrofização. E por último, esses efluentes contêm vários tipos de microrganismos, em sua maioria, bactérias do trato digestivo humano, em que o principal

representante é o grupo dos coliformes. Quanto maior a quantidade de coliformes presentes nos efluentes, mais poluídos eles estão (AMBULKAR e NATHANSON, 2018).

Em decorrência desses fatos é necessário que o efluente passe por um tratamento com a finalidade de manter a qualidade das águas e proteger a saúde pública. Segundo Ambulkar e Nathanson (2018), o tratamento de efluentes pode ser dividido em três níveis, sendo eles, o nível primário, o secundário e o terciário. O tratamento primário compreende a remoção dos materiais mais grosseiros por meio de processos físicos de triagem, remoção de areia e sedimentação. Esse tratamento é capaz de reduzir cerca de 60% dos sólidos suspensos e 35% da DBO. No tratamento secundário ocorre a remoção da matéria orgânica solúvel e os resíduos de sólidos suspensos. Geralmente, o tratamento secundário é feito por processos biológicos, como o lodo ativado ou lagoa de oxidação, sendo capaz de reduzir cerca de 85% dos sólidos suspensos e DBO restantes. Já o tratamento terciário é capaz de remover aproximadamente 99% das impurezas totais, entre elas, mais de 85% do que resta de sólidos suspensos e DBO, além da remoção de nutrientes como o P e N, produzindo um efluente comparável à água potável. Porém, esse é um tratamento caro, podendo custar duas vezes mais que o tratamento secundário.

O P está presente geralmente em forma de fosfatos e pode ser removido por precipitação química, porém isso aumenta o volume do lodo porque o N está presente na forma de amônia e nitratos, ocasionando a remoção por nitrificação-desnitrificação ou por um processo físico-químico de decapagem, mas esses processos encarecem muito o tratamento. Uma alternativa para este problema são as microalgas e suas capacidades de assimilação destes nutrientes tornando-se promissoras no tratamento terciário de efluentes e produzindo valor agregado a partir de sua biomassa. Ao final, existe a etapa da desinfecção, a qual compreende a fase final de destruição de quaisquer organismos patogênicos que afetem a saúde pública, sendo o cloro o componente mais utilizado para esta finalidade.

Com o aumento da degradação ambiental e dos recursos hídricos, as reservas hídricas de boa qualidade estão mais escassas e, conseqüentemente, o desperdício deve ser evitado e no lugar a promoção de processos que reduzam essa degradação torna-se essencial. Desde os anos 60, diversos países investem pesado em formas de reaproveitamento das águas. Dentre elas, o reuso das águas residuais pode ser um recurso valioso com uso na irrigação de jardins, descarga de sanitários públicos, recarga de aquíferos, utilização em processos industriais, entre outros. Isso fornece um método de economia de água, ao mesmo tempo, que ajuda a

reduzir o volume total de esgoto descartado em corpos d'água (COSTA e BARROS JÚNIOR, 2007).

A legislação brasileira atual dada pela resolução 430 de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) apresenta alguns parâmetros importantes no lançamento de efluentes em corpos d'água que estão descritos na Tabela 1. Apesar da resolução se apresentar bastante flexível quanto à concentração de P e N, é indispensável haver um controle destes nutrientes para que os rios e lagos sejam preservados. Dentre os estudos relacionados às aplicações das microalgas, várias discussões estão em pauta sobre a aplicação de microalgas para o tratamento de efluentes e captura de CO₂, associando a isso destinos úteis e rentáveis para a biomassa produzida (OSHE *et al.*, 2007).

Tabela 1 - Padrão de lançamento de efluentes em corpos d'água.

Parâmetro	Limite
pH	5-9
Temperatura	Inferior a 40°C
Materiais Sedimentáveis	1 mL/L
DBO	120 mg/L
Nitrogênio	Não é exigível o padrão de nitrogênio amoniacal total.
Fósforo	O órgão ambiental competente poderá definir padrões específicos para o parâmetro fósforo no caso de lançamento de efluentes em corpos receptores com registro histórico de floração de cianobactérias, em trechos onde ocorra a captação para abastecimento público.

Fonte: CONAMA, 2011.

3.1.1. Tratamento terciário de efluentes utilizando microalgas

O tratamento terciário de águas residuais é indispensável para que seja evitado o processo de eutrofização, caracterizado pelas altas concentrações de nutrientes nas águas. Entre esses nutrientes, os principais são o fósforo (P) e o nitrogênio (N), que promovem a proliferação de algas, desequilibrando o ecossistema, matando a vida marinha e poluindo as águas. Apesar de promover a redução da DBO e DQO, os reatores de lodo ativado não são capazes de remover por completo os nutrientes causadores da eutrofização e os processos para tal fim atualmente explorados são bastante caros, por isso, pouco utilizados (MUJTABA e LEE, 2017).

Nas águas residuais, as concentrações de N e P são bastante variáveis e esses compostos são removidos simultaneamente pelas microalgas sem necessitar a adição de produtos químicos, sendo utilizados na produção de compostos bioquímicos da célula. O nitrogênio é utilizado, em sua maioria, na síntese de proteínas, já o fósforo é incorporado ao ácido ribonucleico ribossômico. Devido a esse poder de fixação de nitrogênio e fósforo, as microalgas se tornaram uma alternativa de baixo custo, além de sustentável, para o tratamento terciário de efluentes. Ao destinar a biomassa obtida neste tratamento a um fim lucrativo, é possível obter um tratamento terciário de custo quase nulo e ainda originar renda a partir da venda de produtos provenientes da biomassa produzida, tornando o processo ainda mais atrativo (BEUCKELS *et al.*, 2015; MUJTABA e LEE, 2017).

Há décadas as microalgas são utilizadas para o tratamento de efluentes em regiões de tempo ensolarado, como um processo de baixo custo (ARAVANTINO *et al.*, 2013). Cepas como *Oscillatoria*, *Scenedesmus*, *Chlorella* e *Nitzschia* estão entre as mais utilizadas por serem as mais tolerantes à poluição desses sistemas. Neste contexto, as bactérias presentes no efluente oxidam a matéria orgânica em compostos inorgânicos (CO_2 , NH_4^+ , PO_4^{3-}) e as microalgas consomem esses compostos produzindo biomassa (ACIÉN *et al.*, 2016). Mennaa *et al.* (2015) utilizaram sete espécies de microalgas (*Chlorella vulgaris*, *C. kessleri*, *C. soroliniana*, *B. braunii*, *S. obliquus*, *A. falcatus* e *N. oleabundans*) para avaliar a capacidade de remoção de nutrientes no tratamento de um efluente urbano. As microalgas foram capazes de remover mais de 80% do fósforo e 87% do nitrogênio dissolvidos. Dentre os resultados identificados da remoção de nutrientes, colheita e produção de biomassa, a espécie de microalga *Scenedesmus* foi a melhor candidata para cultivo em águas residuais.

Mujtaba e Lee (2017) computaram 95% de remoção de nitrogênio em 84 horas de tratamento utilizando uma interação entre lodo ativado e a microalga *Chlorella vulgaris* para tratamento terciário. Além do nitrogênio, os autores conseguiram a remoção de 100% de fósforo em 36 horas de tratamento. Han *et al.* (2018) promoveram o tratamento de efluente municipal com microalgas, utilizando duas espécies distintas, *Micractinium* e *Scenedesmus*. Com isso, conseguiram remover quase por completo o íon amônio, fosfato e a maioria dos íons metálicos, além da redução da DQO. Jebali *et al.* (2015) avaliaram o desempenho das microalgas no tratamento de efluentes. Nesse trabalho a cepa de *Scenedesmus* sp. forneceu eficiência de remoção de 94% de DQO, 99% de íon amônio e 99% de fósforo, apresentando uma biomassa final rica em carboidratos.

3.2. Biologia das microalgas

As microalgas estão entre as formas de vida mais antigas da terra e recebem este nome devido ao seu tamanho microscópico. São geralmente seres fotossintéticos, ou seja, utilizam luz, água e dióxido de carbono (CO₂) para sobreviver. Podem ser procariontes ou eucariontes, unicelulares ou coloniais. As microalgas são encontradas em diversos ecossistemas, principalmente os aquáticos, e são organismos muito resistentes, chegando a sobreviver em amplas faixas de pH, salinidade, temperatura, disponibilidade de nutrientes e fontes de contaminações (GALARZA *et al.*, 2016).

As microalgas podem ser classificadas em procarióticas (Cyanobacteria), eucarióticas (Chlorophyta), algas vermelhas (Rhodophyta) e diatomáceas (Bacillariophyta) (WANG E YIN, 2018). Elas apresentam enorme importância do ponto de vista ecológico. Além de ser base da cadeia alimentar, realizam quase metade da fotossíntese do planeta, indispensável na produção do oxigênio mundial e absorção de CO₂. As microalgas estão entre os organismos mais diversificados da Terra, existindo cerca de 10 mil espécies não identificadas e 70 mil espécies identificadas. Entretanto, poucas destas espécies foram exploradas com êxito para fins biotecnológicos (GALARZA *et al.*, 2016).

As microalgas são exploradas desde o Século XIX, inicialmente, somente com enfoque biológico, contudo, após a Segunda Guerra Mundial, sua biomassa passou a ser explorada para fins de alimentação humana e animal. A partir da década de 1940, iniciaram-se os cultivos de microalgas em grandes volumes, principalmente nos Estados Unidos, Alemanha e Japão. Nessa época, era comum o cultivo da microalga do gênero *Chlorella* sp., principalmente por sua facilidade de cultivo. No Brasil, o cultivo de microalgas começa em 1970 com o objetivo de promover pesquisas na USP e, atualmente, contabiliza-se 45 laboratórios de cultivo em todo país. Nas últimas décadas, vários estudos estão sendo realizados relacionados ao desenvolvimento de modelos de absorção de nutrientes pelas microalgas e a geração de biomassa microalgal (LOURENÇO, 2006).

3.2.1. Fases de crescimento

Ao inocular uma população de microrganismos em um meio com condições favoráveis para seu desenvolvimento e acompanhar o seu crescimento ao longo do tempo obtém-se várias fases características do crescimento.

A primeira é a fase de adaptação celular (fase lag), esta etapa pode ser extensa na presença de substâncias tóxicas, nutrientes com dificuldade de metabolização ou pouca quantidade de inóculo. A segunda é a fase de aceleração do crescimento, um período em que as células já adaptadas começam a se multiplicar. A terceira fase corresponde ao crescimento exponencial, em que o crescimento celular é acelerado e a sua velocidade é diretamente proporcional à concentração da microalga. A quarta fase é a de crescimento linear, essa apresenta velocidade de reprodução constante e pode existir sem a fase exponencial. A quinta fase equivale à desaceleração, ocorrendo quando um ou mais nutrientes no meio se torna limitante, causa um decréscimo na taxa de crescimento. A sexta fase é a estacionária na qual a velocidade de crescimento se iguala a taxa de morte. Por último, tem-se a fase de morte, ou seja, é o resultado do esgotamento de nutrientes causando o rompimento das células (lise celular) (BORZANI *et al.*, 2001).

3.2.2. *Chlorella vulgaris*

A microalga da espécie *Chlorella vulgaris* é uma microalga fotossintética, imóvel, unicelular ou colonial, de forma esférica com 2-10 µm de diâmetro, que pode ser encontrada tanto em água doce como em água salgada (NURACHMAN *et al.*, 2015). Essa espécie reproduz-se assexuadamente e de forma rápida por autoesporulação. A *Chlorella* é um gênero de microrganismos que apresentam fácil cultivo e sua importância nutricional está principalmente nos altos teores de proteínas, representando 42-58% do seu peso seco. Atualmente, o Japão é o país que mais consome essa microalga destinada, mais especificamente, ao tratamento médico pelo seu forte potencial anticancerígeno. Também a *Chlorella* se mostra uma rica fonte de lipídios, principalmente se cultivada em privação de nitrogênio, apresentando um ótimo perfil de ácidos graxos insaturados (SAFI *et al.*, 2014).

Shen *et al.* (2015), utilizaram a microalga *Chlorella vulgaris* para tratamento de águas residuais salinas e os resultados atingiram 100% de remoção do fósforo total. Os autores concluíram que essa espécie de microalga é capaz de evitar contaminação por bactérias, o que é um problema para o cultivo de várias espécies de microalgas. Já Kumar *et al.* (2019) estudaram o potencial da *Chlorella vulgaris* em adsorver o corante Orange-G. Por meio de mecanismos de biossorção e bioconversão apresentados por essa microalga, os autores chegaram a conclusão de que essa microalga se apresentou como ótima alternativa de remediação da descarga final de efluentes têxteis. Outro estudo feito por Daneshvar *et al.* (2018) o qual investigou a viabilidade do tratamento de uma mistura de efluentes de polpa e

aquicultura utilizando *Chlorella vulgaris* encontraram como resultados remoções de aproximadamente 76% de N, 93% de P e 75% de DQO e uma biomassa final rica em proteínas.

3.3. Formas de cultivo de microalgas

O cultivo das microalgas apresenta a vantagem de não competir por terras utilizadas na agricultura por serem cultivadas utilizando apenas água e dióxido de carbono atmosférico. No entanto, é necessário um meio rico em nutrientes para seu desenvolvimento, o que torna esse cultivo mais custoso (CHEW *et al.*, 2017). Como alternativa para diminuir estes custos, a utilização de meios de cultura alternativos, a exemplo do uso de efluentes ricos em nutrientes inorgânicos, passa a ser uma boa solução para o cultivo de microalgas (CANTO *et al.*, 2015).

Quanto à composição do meio de cultivo, as microalgas podem ser cultivadas de forma autotrófica, heterotrófica e mixotrófica. No cultivo autotrófico, as microalgas utilizam luz e carbono inorgânico para realizar fotossíntese e se desenvolver. No cultivo heterotrófico, elas utilizam fontes de carbono orgânico. E no mixotrófico, as microalgas realizam fotossíntese e consomem fontes de carbono orgânico (DAS *et al.*, 2011). Existem diversos fatores limitantes para o crescimento microalgal: a disponibilização dos nutrientes, forma e tamanho das microalgas, a estrutura da parede celular, a composição bioquímica, dentre outros. Dentre esses fatores, encontram-se os biológicos, por exemplo, as taxas metabólicas, inóculo, influência de microrganismos externos; e os fatores físico-químicos, a exemplo, da luz, temperatura, aeração, nutrientes, pH e salinidade (BARROS, 2010).

Quanto às formas de cultivo, essas podem ocorrer em sistemas abertos ou fechados: os sistemas abertos são os mais utilizados em larga escala por serem a opção mais econômica com custos de manutenção e operação mais baixos quando comparados aos fotobiorreatores. Ao instalar um tanque aberto é necessário avaliar a região de instalação, a qual deve ser de clima quente e com grande intensidade de luz. Esses tanques, por estarem suscetíveis às condições climáticas, sofrem o processo de evaporação, sendo por diversas vezes necessária a adição de água ou meio de cultivo. É importante que os tanques de cultivo de microalgas apresentem grandes áreas, porém operem a baixos volumes para permitir a exposição de toda a cultura ao sol, favorecendo a realização da fotossíntese. Para permitir essa homogeneidade também é necessário um sistema de agitação, geralmente realizado por pás rotativas, que fornecem uma alternativa simples e de baixo custo (HOSSEINI *et al.*, 2015). Os reatores de

tanques abertos não podem ser facilmente controlados e corre o risco de estarem sujeitos a contaminações.

Outra alternativa são os sistemas fechados os quais referem-se ao cultivo em fotobiorreatores, reatores fechados, podendo se apresentar em diversas formas e configurações, como placa plana, tubular ou *airlift*. A tecnologia de fotobiorreatores foi desenvolvida para superar as falhas das lagoas abertas, promovendo o aumento da concentração de biomassa em um ambiente controlado. Isso porque os fotobiorreatores permitem que se controle vários fatores determinantes para o cultivo de microalgas, como pH, temperatura, intensidade luminosa e concentração de dióxido de carbono. Esse sistema é muito utilizado para cepas sensíveis a contaminações, ou quando o destino da biomassa necessita de produtos puros, como produtos farmacêuticos e cosméticos. Entretanto, esses reatores apresentam a desvantagem do seu alto custo de construção e esterilização, e sua pequena área de iluminação (SAFI *et al.*, 2014).

3.4.Coleta da biomassa microalgal

O processo de separação da biomassa microalgal representa grande parte dos custos de produção, os quais dependem, dentre outros fatores, do tamanho das células e dos métodos de cultivo (MUJTABA e LEE, 2017). Por apresentarem tamanhos microscópicos, centrifugação e micro-filtração são os métodos mais indicados para separação da biomassa. Os processos de centrifugação, floculação e filtração compreendem os mais utilizados na coleta da biomassa microalgal. A centrifugação, apesar de não ser um processo barato por corresponder a aproximadamente 30% do custo total de produção de biomassa, é altamente eficiente na sua recuperação (cerca de 95%) e não danifica a estrutura da célula durante o processo, contribuindo para o tratamento de grandes volumes em curto espaço de tempo. Porém, tanto a centrifugação como a micro-filtração, ambos os processos encarecem bastante o cultivo, e a depender do destino dessa biomassa, tornam-se inviáveis economicamente. Em razão disso, as células podem ser pré-concentradas por meio de floculação e sedimentação (SALIM *et al.*, 2013). A floculação é considerada uma pré-coleta, facilitando outros métodos. Como as células das microalgas são pequenas e dispersas, é possível adicionar uma base para elevar o pH do meio, permitindo que as células se agremem e formem grumos. Os flocculantes mais utilizados são o hidróxido de sódio, cal ou bioflocculantes, como a quitosana. A filtração é um método que envolve a passagem do caldo contendo a biomassa por um filtro no qual as

células são retidas. Devido ao tamanho microscópico das microalgas, geralmente são realizadas micro ou ultrafiltrações (SAFI *et al.*, 2014).

Novas formas de coleta de biomassa microalgal vêm sendo estudadas para reduzir os custos desse processo. Chen *et al.* (2015) revelaram que a combinação da floculação com a sedimentação proporciona um método de colheita mais econômico que a centrifugação ou a filtração. Porém, a biomassa resultante possui carga de umidade ainda alta que pode afetar nos processos de secagem subsequentes, além da presença dos flocculantes que podem causar alterações químicas ou inibições enzimáticas. Logo, o método a ser escolhido depende das características da biomassa, dos processos subsequentes e do custo de produção esperado. Gross *et al.* (2013) utilizaram um sistema de biofilme de algas rotativas para cultivo de microalgas com a finalidade de facilitar a coleta da biomassa final. Esse sistema foi utilizado em uma lagoa aberta de escala piloto e apresentou alta produtividade de biomassa. O biofilme de folhas de algodão promoveu uma biomassa com teor de água similar as que foram coletadas por centrifugação. Em busca de um processo de coleta de biomassa eficiente e sem danos ao meio ambiente, Zheng *et al.* (2012) utilizaram um flocculante microbiano comercial (γ -PGA) para coleta de microalgas oleaginosas. Além da eficiência de floculação maior que 90% obtida, o flocculante não causou alteração na composição celular da microalga.

3.5. Secagem da biomassa microalgal

Após a coleta da biomassa, essa necessita passar por um processo de secagem para garantir estabilidade físico-química e microbiológica, prolongando sua vida útil. Além disso, a secagem pode aparecer como processo preliminar na produção de diversos compostos (FRANCO *et al.*, 2013).

As técnicas de secagem precisam ser determinadas de forma que as células das microalgas não se deteriorem ou sofram alteração na sua composição com o processo de desidratação (SHOW *et al.*, 2015). Para este fim, diversos métodos de secagem podem ser aplicados, dentre eles o *spray dryer*, a liofilização, a secagem ao sol ou os secadores convectivos (FRANCO *et al.*, 2013). A maioria desses processos deriva das técnicas convencionais utilizadas para secagem de lodo proveniente de tratamento de efluentes (SHOW *et al.*, 2015).

Os sistemas de secagem exercem grande custo na produção de biomassa microalgal, principalmente pelo seu gasto energético. Assim, ao selecionar uma tecnologia de secagem é

necessário levar em consideração a escala de produção e o destino final da biomassa, pois o principal objetivo é obter um produto de baixo custo e que utilize uma tecnologia de fácil operação. Chen *et al.* (2015) concluíram que a tecnologia de secagem escolhida vai depender do produto final desejado e dos custos do processo, pois a secagem ao sol é uma forma barata de secagem, mas demanda grandes áreas. Já a secagem por convecção ou pulverização pode modificar as composições físico-químicas das microalgas, e a liofilização preserva os nutrientes, mas apresenta alto custo operacional.

O processo de secagem ao ar livre, também chamado de secagem natural ou secagem ao sol, é altamente dependente do clima, logo é recomendado para regiões que apresentem clima seco, com pouca presença de chuva e boa irradiação solar. Apresenta a vantagem de promover a secagem a baixos custos e não necessitar de mão-de-obra qualificada. Contudo, tem como desvantagens os altos riscos de contaminação e de tempo de secagem, pois, em casos de processos lentos, a biomassa pode emitir odor desagradável, afetando a qualidade do produto. Quando o destino final da biomassa microalgal é o consumo humano, este método de secagem não é recomendado. Porém, para produção de biocombustíveis ou alimento animal pode ser uma solução aceitável devido o seu baixo custo (JANJAI E BALA, 2012).

Barros (2010) estudou a secagem da biomassa de microalga *S. platensis* em estufa em diferentes temperaturas (55, 60, 65, 70 °C). Neste estudo, o autor observou que o processo de secagem ocorreu no período de taxa decrescente. A temperatura de secagem ideal nessas condições foi de 65 °C, que forneceu biomassa seca em 4 horas de processo.

Guldhe *et al.* (2014) realizaram a secagem da microalga *Scenedesmus* sp. por três métodos diferentes: a liofilização, secagem em estufa e ao sol. Cada metodologia forneceu tempo de secagem diferente. A secagem em estufa demorou 12 horas; a liofilização 24 horas; e a secagem ao sol 72 horas. Apesar de demandar um tempo maior de processo, a secagem ao sol foi considerada a escolha preferida, principalmente para produção de biomassa em larga escala, baseado no consumo de energia e instrumentação necessária.

3.5.1. Cinética de Secagem

Cada material tem o método e a condição de secagem adequada. O conhecimento da cinética de secagem é primordial para a modelagem e otimização do processo. Com isso, faz-se uso de modelos matemáticos com a finalidade de descrever a perda de água do processo,

fundamental para estimativa do tempo necessário para redução do teor de água do produto (COSTA, 2014; SILVA *et al.*, 2015).

O comportamento da secagem pode ser predito através de modelos teóricos, semi-empíricos e empíricos. Os modelos teóricos são baseados nos princípios fundamentais, porém apresentam dificuldade de utilização devido à quantidade de parâmetros das equações. O modelo teórico mais utilizado é o modelo da difusão líquida baseado na segunda Lei de Fick, apresentado na Equação 1 (COSTA, 2014).

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \nabla(D_{ef} \nabla X) \quad \text{Equação 1}$$

sendo, t o tempo (s), D_{ef} a difusividade efetiva de umidade ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) e X a umidade (kg kg^{-1}).

Os modelos empíricos e semi-empíricos baseiam-se somente na resistência externa à temperatura e a umidade relativa do ar de secagem (SILVA *et al.*, 2015). As correlações semi-empíricas que melhores se ajustam aos dados de secagem de microalgas são os de Henderson-Pabis, Newton e Page, apresentados nas Equações 2,3, e 4, respectivamente (VISWANATHAN *et al.*, 2012).

$$Y = a \exp(-Kt) \quad \text{Equação 2}$$

$$Y = \exp(-Kt) \quad \text{Equação 3}$$

$$Y = \exp(-Kt^n) \quad \text{Equação 4}$$

sendo, Y é a razão de umidade adimensional $[(X-X_c)/(X_0-X_c)]$, K a constante de secagem (min^{-1}), t o tempo (min), “a” e “n” os parâmetros de ajuste. X é o conteúdo de umidade instantâneo (base seca), X_0 é o teor de umidade inicial (base seca) e X_c é o teor de umidade de equilíbrio (base seca).

Viswanathan *et al.* (2012) fizeram uso destes três modelos semi-empíricos para descrever a secagem em camada delgada de um cultivo de microalgas (*Chlorella minutíssima*, *Chlamydomonas globosa* e *Scenedesmus bijuga*) em quatro temperaturas (30, 50, 70 e 90 °C). Entre os modelos, o de Page foi o que apresentou melhor ajuste aos dados de secagem.

3.6.Outras aplicações da biomassa microalgal

Inicialmente, as microalgas foram vistas com forte potencial para produção de bicompostíveis, principalmente pela crise energética e esgotamento das fontes naturais.

Porém, com o avanço dos estudos de aplicações de biomassa microalgal, verificou-se que a produção de biocombustíveis a partir de microalgas não era viável economicamente. Em resposta, foram surgindo novas tecnologias de produção de biodiesel para baratear o processo, além de coprodutos derivados das microalgas com alto valor agregado, como pigmentos, proteínas, vitaminas, antioxidantes, ração animal, entre outros (CHEW *et al.*, 2017).

Houve, nos últimos anos, um crescente aumento na exploração das microalgas para fins biotecnológicos. Isto porque, suas biomoléculas e metabólitos podem ser explorados de várias formas, favorecendo sua biomassa a diversas aplicações comerciais (GALARZA *et al.*, 2016). Seus carboidratos consistem, principalmente, de celulose e amido, sem lignina, dispondo como destino produções de butanol e etanol. Seus ácidos graxos de cadeias longas são ótimas fontes de suplementos alimentares, suas proteínas e pigmentos têm enorme aplicação em indústrias médicas e farmacêuticas, os lipídios, que correspondem cerca de 30-50% do seu peso total, são ótimas fontes de biodiesel, e também os altos níveis de vitaminas podem ser introduzidos na alimentação humana (CHEW *et al.*, 2017).

O uso da biomassa de microalgas na nutrição animal vem sendo bastante explorado, já que atualmente 30% da produção mundial de microalgas destina-se a nutrição animal. É possível utilizar as microalgas diretamente na ração animal de ruminantes, como ovelhas e gado, devido à capacidade desses animais em digerir celulose. Além disso, o uso de ração enriquecida com microalgas para uso na avicultura pode ter efeito positivo na coloração da pele e gema dos ovos, devido à presença de carotenoides. Também é possível substituir em até 50% a proteína de soja na ração de suínos pela biomassa da microalga *Chlorella sp.* (ANDRADE e FILHO, 2014).

Devido ao seu potencial em absorver CO₂, as microalgas também têm contribuído para redução do efeito estufa, contribuindo para a geração de lucros ao adquirir créditos de carbono (CHEW *et al.*, 2017). Atualmente, existem pesquisas avançadas no desenvolvimento de cepas de microalgas geneticamente modificadas. Dentre uma de suas finalidades, o acúmulo de seus cloroplastos favorece a produção de proteínas recombinantes para usos terapêuticos, incluindo vacinas orais, imunotoxinas e anticorpos (GALARZA *et al.*, 2016).

Os compostos derivados de microalgas podem ser produzidos em biorrefinarias, selecionando tecnologias apropriadas de acordo com o consumo de energia necessário (CHEW *et al.*, 2017). Carvalho *et al.* (2018) concluíram que a cultura de microalgas é uma

ótima alternativa para integração em biorrefinaria. Esses autores integraram o uso de microalgas em uma usina de processamento de mandioca para tratamento da manipueira, resíduo líquido bastante tóxico para ser descartado e, ao mesmo tempo, bastante rico em nutrientes, para promover o crescimento de biomassa microalgal. Nos estudos, eles computaram cerca de 99% de redução na DQO, na concentração de fosfato, nitrato e cianeto. Dessa forma, as indústrias deste setor podem tratar o resíduo tóxico aliado ao tratamento um biodigestor para recuperar energia.

A biomassa microalgal pode sofrer vários processos de transformação, dentre eles é possível citar a conversão termoquímica ou bioquímica, a transesterificação e a célula combustível microbiana fotossintética. A conversão termoquímica é capaz de gerar gás de síntese, através da gaseificação da biomassa, além dos biocombustíveis com poder calorífico médio-baixo através da pirólise. Já o biogás e o etanol são produzidos pela conversão bioquímica. A transesterificação é o processo pelo qual o biodiesel é produzido. A célula combustível microbiana fotossintética, por sua vez, produz eletricidade a partir da biodegradação da matéria orgânica em condições anaeróbicas (CHEW *et al.*, 2017).

Além de seus produtos mais explorados, as microalgas também apresentam atividade anticancerígena, devido aos seus pigmentos naturais como clorofila e os carotenoides. Esses componentes são eficazes agentes químicos na prevenção de câncer, apresentando efeitos antitransgênicos e antitumorígenos, que auxiliam na supressão da atividade de formação de células cancerígenas. Atividade anti-inflamatória também é uma das características das microalgas, pois seus carotenoides contêm atividades antioxidantes e anti-inflamatórias. A biomassa microalgal também apresenta atividade anti-angiogênica. A angiogênese é o crescimento de vasos sanguíneos essenciais para o crescimento e reparo de órgãos, e o extrato orgânico da microalga foi mostrado promissor em processos de neovascularização (CHEW *et al.*, 2017).

Khataee *et al.* (2010) fizeram uso das microalgas para promover a degradação biológica de verde malaquita, obtendo êxito na remoção desse corante. Além disso, os autores utilizaram as Redes Neurais Artificiais (RNAs) para modelar essa remoção, no intuito de prever a eficiência de degradação biológica. Foi utilizada uma topologia de rede com 5 neurônios de entrada (tempo, pH, temperatura, concentração de corante inicial e inóculo), 12 na camada oculta e 1 de saída (remoção de corante), apresentando desempenho preditivo razoável com $R^2=0,970$.

3.7. Redes neurais artificiais

As Redes Neurais Artificiais (RNAs) foram desenvolvidas e inspiradas no sistema neural biológico, possuem unidades de processamento simples chamadas neurônios, os quais possuem capacidade computacional de aprendizagem. Para que ocorra o aprendizado neural, um conjunto de exemplos é fornecido à rede que generaliza o conhecimento adquirido e consegue dar respostas coerentes para dados ainda desconhecidos (PINHEIRO *et al.*, 2017). Logo, a capacidade de aprender com exemplos e generalizar as informações aprendidas são os principais atrativos em solucionar problemas por meio das RNAs. Essas, por sua vez, são aplicadas em problemas de classificação, por exemplo, atribuição a um padrão desconhecido por uma dentre várias classes conhecidas, em problemas de previsão como a estimativa de situações futuras tendo como base dados atuais, problemas de otimização com a minimização ou maximização de uma função, entre outros vários problemas e tarefas (BRAGA *et al.*, 2012).

3.7.1. Neurônio Artificial

Os neurônios são as unidades de processamento de informação e cálculo que formam a base das RNAs. A Figura 1 representa um modelo não-linear de um neurônio.

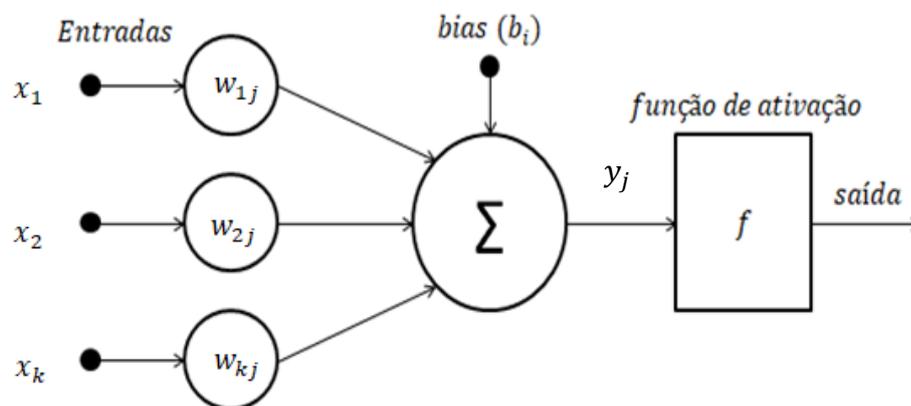


Figura 1 - Esquema de um neurônio artificial j (Fonte: adaptado de HAYKIN, 2003)

O sinal x_k na entrada na sinapse k conectada ao neurônio j é multiplicado pelo peso sináptico w_{kj} . Todos os sinais de entrada são ajustados por meio dos pesos sinápticos e depois somados. A *bias* tem o efeito de aumentar ou diminuir a entrada líquida da função de ativação, que, por sua vez, restringem a amplitude da saída do neurônio (CAVALCANTE, 2016; HAYKIN, 2003). Em termos matemáticos, um neurônio j é descrito pela Equação 5 (HAYKIN, 2003).

$$y_j = f\left[\left(\sum_{k=1}^n w_{kj}x_{kj}\right) + b_i\right] \quad \text{Equação 5}$$

sendo, w_{kj} os pesos sinápticos do neurônio j , x_k os sinais de entrada, f a função de ativação interna e b_i o bias.

3.7.2. Funções de ativação

O neurônio é ativado quando um conjunto de entradas é aplicado e a resposta é determinada pela função de ativação. Essas funções podem ser do tipo limiar, sigmoide, tangente hiperbólica, entre outras (CAVALCANTE, 2016).

Na função de limiar a saída de um neurônio assume o valor 1 se o campo local induzido daquele neurônio é não negativo e 0 caso contrário. A saída do neurônio k que emprega esta função de limiar está expressa na Equação 6 (HAYKIN, 2003).

$$y_j = \begin{cases} 1 & \text{se } v_j \geq 0 \\ 0 & \text{se } v_j < 0 \end{cases} \quad \text{Equação 6}$$

A Equação 7 abaixo representa a função sigmoide estritamente crescente, a qual exhibe um balanceamento adequado entre comportamento linear e não-linear. É uma função diferenciável que assume um intervalo contínuo de valores entre 0 e 1 (HAYKIN, 2003).

$$f(y_j) = \frac{1}{1 + \exp(-ay_j)} \quad \text{Equação 7}$$

Por último, a Equação 8 refere-se à função tangente hiperbólica, na qual pode ser usada para que a função de ativação varie entre -1 e 1, assumindo uma forma anti-simétrica em relação à origem (HAYKIN, 2003).

$$f(y_j) = \tanh(y_j) \quad \text{Equação 8}$$

3.7.3. Arquiteturas de RNAs

A arquitetura de uma RNA define como seus neurônios estão arranjados em relação aos outros. É possível identificar três classes de arquiteturas de redes diferentes: as redes alimentadas adiante com camada única; as alimentadas diretamente com múltiplas camadas; e as recorrentes. As redes alimentadas adiante com camada única e alimentadas diretamente com múltiplas camadas são chamadas de redes *feedforward*. Nas redes *feedforward*, cada

camada conecta-se a próxima sem caminho de volta. Já as redes recorrentes utilizam suas saídas para alimentar as entradas (realimentação) (COSTA, 2016; HAYKIN, 2003).

Nas arquiteturas de redes alimentadas adiante com camada única tem-se uma camada de entrada de neurônios de fonte que se projeta sobre uma camada de saída de neurônios. Já as redes alimentadas diretamente com múltiplas camadas possuem uma ou mais camadas ocultas, cujos nós computacionais são chamados de neurônios ocultos. A função desses neurônios é intervir entre a entrada externa e a saída da rede, tornando a rede capaz de extrair estatísticas de ordem elevada. Essa habilidade contribui para a importância de quando a camada de entrada é grande. Quando cada um dos nós de uma camada dessa rede está conectado a todos os nós da camada adjacente seguinte esta rede é dita totalmente conectada. Já as redes recorrentes apresentam laços de realimentação que causam impacto profundo na capacidade de aprendizagem da rede e no seu desempenho (HAYKIN, 2003).

3.7.4. Aprendizado

A etapa de aprendizado de uma RNA consiste em um processo iterativo de ajuste de parâmetros. Os pesos das conexões guardam ao final do processo o conhecimento que a rede adquiriu do ambiente externo. O conceito de aprendizado está relacionado com a melhoria do desempenho da rede. O erro quadrático médio da resposta da rede em relação ao conjunto de dados fornecidos é utilizado como critério de desempenho pelos algoritmos de correção de erro. Esses algoritmos de aprendizado diferem na forma como a variação dos pesos é calculada e podem ser divididos em algoritmos de aprendizado supervisionado ou não supervisionado (BRAGA *et al.*, 2012).

No aprendizado supervisionado, para cada padrão de entrada a rede tem sua saída comparada a saída desejada pelo supervisor, que fornece informações sobre a direção de ajuste dos pesos. A regra delta e o algoritmo *backpropagation* são os algoritmos de aprendizado supervisionado mais conhecidos. O exemplo típico de aprendizado supervisionado é o aprendizado por correção de erros, no qual se procura minimizar o erro da resposta atual da rede em relação à saída desejada (BRAGA *et al.*, 2012).

Já no que tange à duração do processo de aprendizado não supervisionado, os padrões de entrada são apresentados continuamente à rede e a existência de regularidades nos dados faz com que o aprendizado seja possível. Os modelos mais conhecidos desse tipo de

aprendizado são os mapas auto-organizativos de Kohonen, os modelos ART e os algoritmos baseados na regra de Hebb (BRAGA *et al.*, 2012).

O modelo *perceptron* é a forma mais simples de uma rede neural usada para classificação de padrões linearmente separáveis, consistindo de um único neurônio com pesos sinápticos ajustáveis e bias (HAYKIN, 2003). Quando há necessidade de mais de uma camada na arquitetura da rede, utiliza-se o *perceptron* de múltiplas camadas, apresentando uma ou mais camadas ocultas entre a camada de entrada e a de saída (COSTA, 2016). O algoritmo de treinamento das redes de múltiplas camadas mais popular é o *backpropagation*, um algoritmo supervisionado, no qual utiliza pares de entrada e saída para ajustar os pesos da rede por meio de um mecanismo de correção de erros. Esse algoritmo faz uso do gradiente descendente para estimar o erro das camadas intermediárias. O treinamento ocorre em duas fases, a *forward*, utilizada para definir a saída da rede para um dado padrão de entrada, e a *backward*, que utiliza a saída desejada e a predita pela rede para atualizar os pesos de suas conexões (BRAGA *et al.*, 2012).

Desde a sua criação, o algoritmo *backpropagation* vem passando por modificações com a finalidade de acelerar seu tempo de treinamento e melhorar seu desempenho. Uma otimização do algoritmo *backpropagation* é o algoritmo *Levenberg-Marquardt* (LM), uma aproximação do método de Newton, considerado um método de segunda ordem, baseado no método dos mínimos quadrados para modelos não-lineares (PINHEIRO *et al.*, 2017).

3.7.5. Algoritmo *Levenberg-Marquardt*

O algoritmo *Levenberg-Marquardt* (LM) apresenta a velocidade de convergência do algoritmo de Newton e a estabilidade do método do gradiente descendente, os quais se referem aos dois teoremas básicos do algoritmo. Por sua vez, o LM melhora o método de Gauss-Newton por meio da utilização de uma taxa de aprendizado variável. Com esse algoritmo os pesos da rede são ajustados de acordo com a Equação 9 (SURATGAR *et al.*, 2007).

$$\Delta w = [J^T J + \mu I]^{-1} J^T e \quad \text{Equação 9}$$

em que J é a matriz Jacobiana, μ é a taxa de aprendizado e e é o vetor de erro que compreende o erro para todos os exemplos de treinamento.

A taxa de aprendizado (μ) é multiplicada pela taxa de decaimento β ($0 < \beta < 1$) sempre que $F(w)$ diminui; e dividida por β sempre que $F(w)$ aumenta em uma nova etapa. $F(w)$ é o índice de desempenho a ser minimizado e está apresentado na Equação 10 (SURATGAR *et al.*, 2007).

$$F(w) = e^T e \quad \text{Equação 10}$$

Segundo Suratgar *et al.* (2007), O processo padrão de treinamento do algoritmo LM pode ser descrito como:

1. Inicialize os pesos e o parâmetro μ ($\mu = 0,01$).
2. Calcule $F(w)$ em todas as entradas.
3. Resolva o passo anterior para obter o incremento de pesos Δw .
4. Recalcule $F(w)$ usando $w + \Delta w$ e julgue:

IF $F(w) < F(w)$ no passo 2 então

$$w = w + \Delta w$$

$$\mu = \mu \cdot \beta (\beta = 1)$$

Volte para o passo 2

ELSE

$$\mu = \mu / \beta$$

Volte para o passo 4

END IF

3.7.6. Aplicações das RNAs

O sucesso de uma RNA está no ajuste do número de camadas, do número de neurônios em cada camada e dos dados fornecidos para treinamento da rede. Todos esses aspectos variam de acordo com a complexidade do problema e consistem em uma busca de êxito por tentativa e erro (MOREIRA *et al.*, 2006).

Santos (2001) fez uso de uma RNA com algoritmo *backpropagation* para caracterização de microalgas. O estudo teve por objetivo utilizar a rede para distinguir conjuntos de espécies de microalgas semelhantes em sua forma que pudessem gerar dúvidas para os pesquisadores. No resultado alcançado pelo autor, reconheceram rapidamente as cinco espécies de microalgas estudadas, na melhor configuração da rede, que foi de 16 neurônios intermediários.

Kishore *et al.* (2018) utilizaram uma RNA para prever o crescimento da microalga *Euglena* sp. baseando-se em 156 conjunto de experimentos laboratoriais. As variáveis de entrada da rede foram parâmetros essenciais para crescimento microalgal (temperatura, luminosidade, fotoperíodo e composição do meio de cultivo). A rede com uma camada oculta de 20 neurônios foi a que apresentou melhor ajuste aos dados, utilizando o algoritmo de *Levenberg-Marquardt* e função de ativação *tansig* na camada oculta e linear na camada de saída.

Guçlu e Dursun (2010) fizeram uso das RNAs para a modelagem de uma usina de tratamento de águas residuais em larga escala, na qual os resultados de predição também foram satisfatórios. Com o intuito de prever as concentrações de DQO, sólidos suspensos e sólidos misturados em tanque de aeração, eles concluíram que a modelagem com o uso de uma RNA se apresenta como ótima opção para aplicação no controle de processos de ETEs.

Mjalli *et al.* (2007) fizeram uso da RNA para prever o desempenho da estação de tratamento de efluentes de Doha. O modelo utilizado forneceu previsões precisas de DBO, DQO e sólidos suspensos totais. Os autores concluíram que a técnica de modelagem de RNAs é uma escolha atraente para modelar sistemas complexos de tratamento de águas residuais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Efluente sanitário

A coleta do efluente sanitário utilizado no estudo aconteceu na Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) da Universidade Federal de Sergipe (UFS), após passar por tratamento secundário em reator anaeróbio de fluxo ascendente (reator UASB de manta de lodo). O reator onde foi coletado o efluente está apresentado na Figura 2.



Figura 2 - Ponto de coleta do efluente em reator UASB de tratamento secundário na ETE da UFS.
(Fonte: Arquivos do autor)

4.2. *Chlorella vulgaris*

A microalga da espécie *Chlorella vulgaris* utilizada no presente trabalho foi isolada do efluente da ETE da UFS e mantida sob refrigeração (6 ± 2 °C) em meio WC, conforme formulado por Guillard e Lorenzen (1972) sem adição de vitaminas. A Figura 3 apresenta uma imagem de microscópio aumentada 40x da microalga *Chlorella vulgaris*.

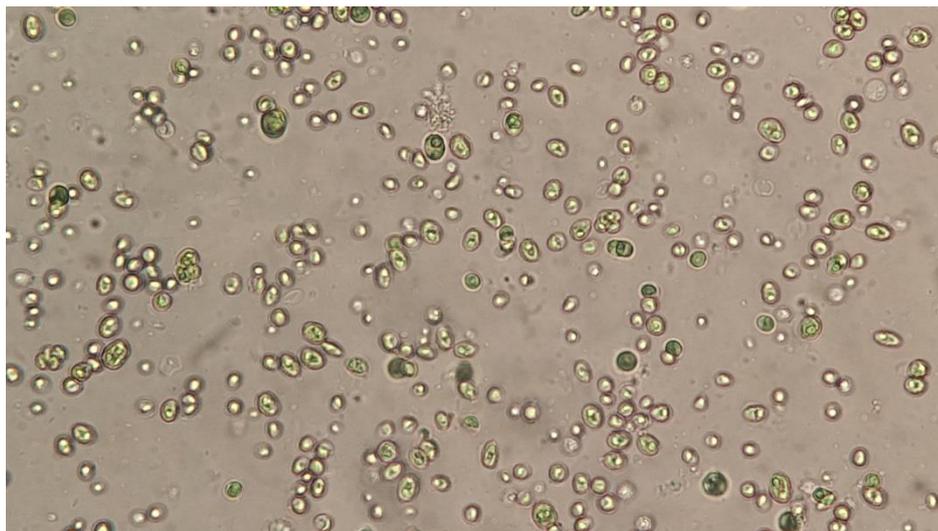


Figura 3 - Imagem microscópica da microalga da espécie *Chlorella vulgaris* com 40x de aumento.
(Fonte: Arquivos do autor)

4.2.1. Inóculo

Para ativar o metabolismo da microalga, foi preparado um pré-inóculo de 600 mL em erlenmyer, com a adição de 10% (v/v) do cultivo de *Chlorella vulgaris* refrigerado em efluente puro. O pré-inóculo foi mantido durante 7 dias sobre agitação proveniente de nebulizador (INALAR - taxa de nebulização 0,40 mL/min), chegando ao mais próximo possível de um sistema *airlift* e luz artificial de 20 W de potência. Posteriormente, preparou-se um inóculo em caixa transparente de polietileno de 30 L, adicionando o pré-inóculo a 5,4 L de efluente. O inóculo foi mantido durante 7 dias ao ar livre, sobre a luz natural do sol e aeração fornecida por nebulizador.

4.3. Tratamento terciário

Um volume de 20 L do efluente sanitário foi tratado com a microalga *Chlorella vulgaris* em caixa de polietileno transparente de 30 L exposto às condições ambientais e à agitação por nebulizador (Figura 4), com a adição de 10% (v/v) de inóculo previamente preparado. O tratamento foi realizado durante 9 dias, em triplicata. Antes do tratamento o efluente foi caracterizado quanto a concentração de fosfato, íon amônio, DQO e pH. Durante o tratamento, avaliou-se diariamente a concentração de fosfato, íon amônio, DQO, pH e o crescimento da biomassa microalgal. O procedimento foi realizado no verão e no inverno para análise da influência do clima na eficiência do tratamento, determinada através das porcentagens de remoção de nutrientes e crescimento microalgal, como descrito nos itens 4.3.1, 4.4.2, 4.4.3 e 4.4.4.



Figura 4 - Tratamento terciário de efluente com microalga *Chlorella vulgaris* contendo 20 L de efluente e 2 L de inóculo em cada tanque.
(Fonte: Arquivos do autor)

4.3.1. Crescimento da biomassa microalgal

O crescimento da biomassa microalgal foi determinado diariamente de acordo com o método espectrofotométrico de densidade ótica proposto por Redaelli *et al.* (2010). A amostra foi lida diretamente em espectrofotômetro (Biospectro SP-220) a 570 nm e a concentração de biomassa determinada a partir de uma curva padrão de peso-seco (Apêndice A), conforme a Equação 11.

$$Biomassa\ seca\ (g.mL^{-1}) = ABS_{570nm}/27,463 \quad \text{Equação 11}$$

A porcentagem de crescimento de biomassa foi calculada de acordo com a Equação 12:

$$CB\% = \frac{CB_f - CB_i}{CB_i} * 100 \quad \text{Equação 12}$$

sendo $CB\%$ a porcentagem de crescimento de biomassa, CB_i a concentração de biomassa inicial e CB_f a concentração de biomassa final.

4.4. Análises físico-químicas do efluente sanitário

4.4.1. pH

O pH foi medido diariamente através de papéis indicadores de pH (Macherey-Nagel - 92110), utilizando como método de teste uma escala colorimétrica, variando numa faixa de pH entre 0-14.

4.4.2. DQO

A DQO foi medida no início e fim do tratamento terciário, utilizando a metodologia de determinação colorimétrica com refluxo fechado de DQO, proposta por Clescerl *et al.* (1998). Para análise preparou-se uma solução digestora com dicromato de potássio e uma solução catalisadora com sulfato de prata. A solução digestora foi preparada dissolvendo-se 4,903 g de dicromato de potássio seco em 500 mL de água destilada, acrescentando 167 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, a solução foi diluída para 1 L com água destilada. Já para a solução catalisadora adicionou-se 5,5 g de sulfato de prata a 1 L de ácido sulfúrico concentrado. Essa solução ficou em repouso durante 2 dias para utilização.

A análise foi realizada adicionando-se 1 mL de amostra, 2 mL de solução digestora e 3 mL de solução catalisadora em um tubo de ensaio de vidro com tampa rosqueada. Os tubos foram colocados em bloco digestor (Logen Scientific – DQO 025) e as amostras foram digeridas a 150 °C por duas horas. Após a digestão, foi aguardado o resfriamento do tubo e as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 600 nm em cubeta de quartzo. A DQO foi obtida por meio de curva padrão (Apêndice A) construída a partir de uma solução de biftalato de potássio (Relação teórica entre o biftalato de potássio e a DQO: 1 mg de biftalato de potássio equivale a 1,171 mg O₂), conforme a Equação 13.

$$DQO (mg \cdot L^{-1}) = 5872,9 \cdot ABS_{600nm} + 12,672 \quad \text{Equação 13}$$

A porcentagem de remoção de DQO foi calculada de acordo com a Equação 14:

$$RDQO\% = \frac{CDQO_i - CDQO_f}{CDQO_i} * 100 \quad \text{Equação 14}$$

sendo $RDQO\%$ a porcentagem de remoção de DQO, $CDQO_i$ a concentração inicial e $CDQO_f$ a concentração final de DQO.

4.4.3. Fosfato

As medidas da concentração de fosfato realizaram-se diariamente durante todo o tratamento terciário, seguindo a metodologia modificada de determinação espectrofotométrica de fosfato, proposta por Clescerl *et al.* (1998).

Para a análise, foram adicionadas 1,6 mL de uma solução desenvolvedora de cor a 5 mL da amostra, previamente centrifugada e filtrada. Esperou-se 1 hora até a estabilidade da coloração. Posteriormente, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 880 nm em cubetas de quartzo. Os valores de concentração de fosfato foram determinados a partir de curva padrão (Apêndice A), construída com solução de fosfato monopotássico anidro, conforme a Equação 15.

$$\text{Fosfato (mg.L}^{-1}\text{)} = 1,543 \cdot \text{ABS}_{880\text{nm}} - 0,0325 \quad \text{Equação 15}$$

A porcentagem de remoção de fosfato foi calculada de acordo com a Equação 16:

$$\text{RP}\% = \frac{\text{CP}_i - \text{CP}_f}{\text{CP}_i} * 100 \quad \text{Equação 16}$$

sendo $\text{RP}\%$ a porcentagem de remoção de fosfato, CP_i a concentração inicial e CP_f a concentração final de fosfato.

Para preparo da solução desenvolvedora de cor foram preparadas quatro soluções reagentes: A solução A (ácido sulfúrico 2,5 M), preparada diluindo 7 mL de ácido sulfúrico concentrado em 43 mL de água destilada; a solução B (tartarato misto de antimônio e potássio hemihidratado), preparada dissolvendo 0,014 g de tartarato misto de antimônio e potássio em 5 mL de água destilada; a solução C (molibdato de amônio), dissolvendo 0,6 g de molibdato de amônio em 15 mL de água destilada; e a solução D (ácido ascórbico) dissolvendo 0,528 g de ácido ascórbico em 30 mL de água destilada. Após preparar cada um dos reagentes, eles foram misturados na sequência “A+B+C+D” em balão volumétrico de 100 mL.

4.4.4. Íon amônio

As medidas da concentração de íon amônio realizaram-se diariamente durante o tratamento terciário, seguindo a metodologia de determinação espectrofotométrica proposta por Grasshoff *et al.* (1999).

Para análise, prepararam-se os reagentes fenol-álcool (5 g de fenol dissolvidas em 50 mL de etanol 95%), nitroprussiato de sódio (0,5 g de nitroprussiato de sódio dissolvidas em 100 mL de água destilada), complexante alcalino (50 g de citrato de sódio e 2,5 g de hidróxido de sódio dissolvidas em 250 mL de água destilada) e uma solução oxidante (100 mL do reagente “C” adicionado a 25 mL de água sanitária).

A análise aconteceu da seguinte forma: 10 mL da amostra, devidamente centrifugada e filtrada, juntamente com 0,4 mL da solução “A”, 0,4 mL da solução “B” e 1 mL da solução “D” foram adicionados a um tubo de ensaio. O tubo foi homogeneizado e deixado no escuro por uma hora. Posteriormente, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 630 nm em cubetas de quartzo e as concentrações de íon amônio foram determinadas através de curva padrão (Apêndice A) construída com solução padrão de sulfato de amônio, conforme a equação 17.

$$\text{Íon amônio } (\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = 1117,3 \cdot \text{ABS}_{630\text{nm}} - 31,276 \quad \text{Equação 17}$$

A porcentagem de remoção de íon amônio foi calculada de acordo com a Equação 18:

$$\text{RN}\% = \frac{\text{CN}_i - \text{CN}_f}{\text{CN}_i} * 100 \quad \text{Equação 18}$$

sendo $\text{RN}\%$ a porcentagem de remoção de íon amônio, CN_i a concentração inicial e CN_f a concentração final de íon amônio.

4.5. Coleta da biomassa

Após o tratamento de efluentes, a biomassa microalgal passou por processo de decantação e o sobrenadante foi removido através de sifonação.

4.6. Secagem da biomassa

Para secagem da biomassa, frascos de polietileno contendo espessuras de 1 e 2 cm de biomassa (Figura 5), foram expostos ao ar livre sobre os raios solares. O peso da amostra foi acompanhado em balança analítica, no início em 3 intervalos de 5 minutos, depois em 3 intervalos de 10 minutos, depois em 3 intervalos de 30 minutos, e então, foram inseridos intervalos de 60 minutos até atingir valor constante. Durante este período foi medida a temperatura e a intensidade de luz com auxílio de um termômetro digital (TP 101) e um luxímetro (LUX METER), respectivamente. Depois de seca, foi determinado o teor de

umidade da biomassa, no qual a amostra foi condicionada em estufa a $(105 \pm 3 \text{ } ^\circ\text{C})$ por 24 horas (AOAC, 1995).

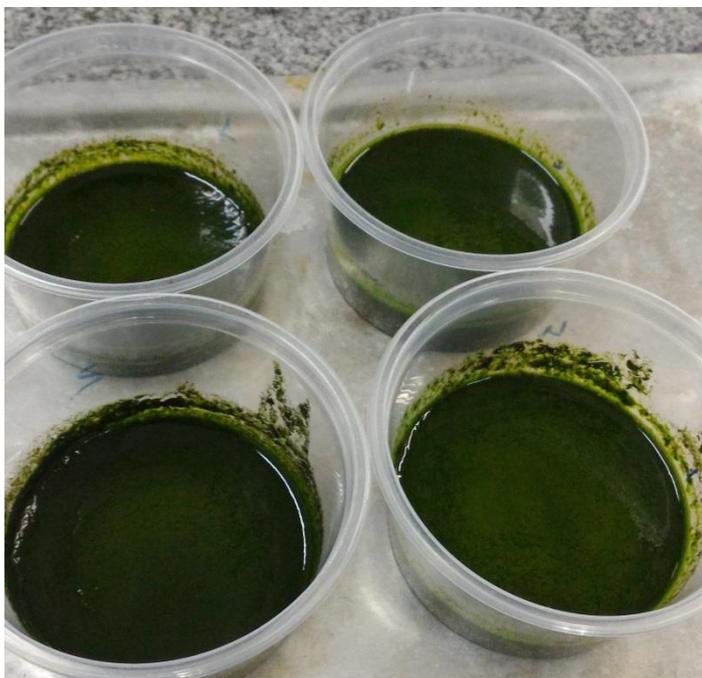


Figura 5 - Frascos com biomassa microalgal para procedimento de secagem ao ar livre.
(Fonte: Arquivos do autor)

Os dados experimentais da secagem foram utilizados para construção das curvas de secagem para as diferentes espessuras. A partir destas curvas foi possível avaliar a influência da espessura no tempo de secagem do material. As curvas de secagem foram ajustadas aos dados experimentais por meio do software STATISTICA 10. Foram utilizados 3 diferentes modelos matemáticos, Equações 2,3 e 4, a fim de determinar a constante de secagem. Após o ajuste, foi realizada uma avaliação para identificar qual modelo melhor se ajustaria às curvas de secagem a partir da análise do coeficiente de determinação ajustado (R^2).

4.7. Análises físico-químicas da biomassa microalgal

4.7.1. Sólidos totais

A quantidade de sólidos totais foi determinada por meio da razão entre o peso da amostra seca após 24 horas em estufa e úmida, conforme a Equação 19 (SLUITER *et al.*, 2008). As análises foram realizadas em duplicata.

$$\% \text{Sólidos Totais} = \frac{\text{Biomassa seca (g)}}{\text{Biomassa úmida (g)}} \cdot 100$$

Equação 19

4.7.2. Cinzas

Aproximadamente 2g de amostra foram colocadas em cadinho e esse foi levado a mufla a 500-600°C até que o material apresentasse coloração esbranquiçada. Após isso, a amostra ficou em dessecador até atingir temperatura ambiente e o novo peso foi determinado (SLUITER *et al.*, 2008). A quantidade de cinzas foi determinada através da diferença de peso antes e depois da carbonização dividida pelo peso da amostra seca, conforme a Equação 20. A análise foi realizada em triplicata.

$$\%Cinzas = \frac{Peso(g)_{cadinho+cinzas} - Peso(g)_{cadinho}}{Peso(g)_{amostra\ seca}} \cdot 100 \quad \text{Equação 20}$$

4.7.3. Sólidos voláteis

A quantidade de sólidos voláteis foi determinada por meio da diferença entre os sólidos totais e os sólidos fixos, conforme a Equação 21 (SLUITER *et al.*, 2008). A análise foi realizada em triplicata.

$$\%Sólidos\ Voláteis = \frac{Peso(g)_{amostra\ úmida} - Peso(g)_{amostra\ seca}}{Peso(g)_{amostra\ úmida}} \cdot 100 \quad \text{Equação 21}$$

4.7.4. Proteínas

As proteínas foram quantificadas conforme a metodologia proposta por Mota *et al.* (2018). Inicialmente, adicionou-se 10 mg da biomassa seca macerada, 1 mL de água destilada e 1 ml de solução SDS (SDS 10% m/v + Glicerol 15% v/v) em tubo eppendorf. As amostras foram homogeneizadas, incubadas em banho-maria (SOLAB SL154) a 100°C por 5 minutos e homogeneizadas novamente. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante coletado foi diluído 30 vezes.

Para realização da leitura no espectrofotômetro, 4,5 mL do reagente C, 0,5 mL do reagente Folin (folin 2N diluído na proporção 1:2 com água destilada) e 1 mL da amostra final foram misturados. A leitura foi realizada em 750 nm em cubetas de quartzo e a concentração de proteína foi determinada por meio de curva padrão de Albumina (Apêndice A), conforme a Equação 22. As análises foram realizadas em triplicata.

$$Proteínas\ (g\ L^{-1}) = 0,791 \cdot ABS_{750nm} - 0,023 \quad \text{Equação 22}$$

A porcentagem de proteínas presente na amostra foi calculada conforme a Equação 23.

$$\%Proteínas = \frac{Proteínas (mg.mL^{-1}) \cdot 2 mL}{10 mg} \cdot 100 \quad \text{Equação 23}$$

O reagente C foi preparado a partir da mistura de três soluções: a solução A preparada dissolvendo 2 g de carbonato de sódio em 100 mL de solução NaOH 0,1 M; a solução B dissolvendo 0,25 g de sulfato de cobre em 50 mL de água destilada; e a solução C dissolvendo 0,5 g de tartarato de sódio e potássio em 50 mL de água destilada. Para preparo do reagente C, 50 volumes da solução “A” foram misturados com 1 volume da solução “B+C”.

4.7.5. Carboidratos solúveis

Os carboidratos solúveis foram quantificados conforme a metodologia espectrofotométrica modificada de Dubois *et al.* (1956). Um volume de 4 mL de uma solução de NaOH 1 N foi adicionado a 10 mg de amostra em *ependorf* e foram incubados em banho-maria (SOLAB SL154) a 40° C por uma hora. Após esfriar, a amostra foi centrifugada a 3.000 rpm por 10 min e 1 mL do sobrenadante foi coletado. 500 µL de fenol (5%) e 2,5 mL de ácido sulfúrico foram adicionados ao sobrenadante, sendo posteriormente homogeneizados. Após homogeneização, a amostra foi incubada em banho-maria (SOLAB SL154) a 30 °C por 20 minutos. Após esfriar, a amostra foi lida em espectrofotômetro a 490 nm em cubetas de quartzo e a concentração de carboidratos foi determinada através de curva-padrão de glicose (Apêndice A), conforme a Equação 24. As análises foram realizadas em triplicata.

$$Carboidratos (\mu g.mL^{-1}) = 107,88 \cdot ABS_{490nm} + 4,9484 \quad \text{Equação 24}$$

A porcentagem de carboidratos presente na amostra foi calculada conforme a Equação 25.

$$\%Carboidratos = \frac{Carboidratos (mg.mL^{-1}) \cdot 4 mL}{10 mg} \cdot 100 \quad \text{Equação 25}$$

4.7.6. Glicose

A glicose foi quantificada conforme a metodologia proposta por Souza *et al.* (2017). A análise foi realizada digerindo-se 10 mg de biomassa seca e macerada em banho-maria (SOLAB SL154) a 100°C com 4 mL de ácido sulfúrico 1 M durante 2 h. Após a digestão, a amostra foi hidrolisada com carbonato de cálcio até ser obtida uma textura de gel (pH 7). As

amostras passaram por processo de centrifugação a 6.000 rpm durante 5 minutos e, posteriormente, o sobrenadante foi coletado.

A determinação da concentração de glicose no sobrenadante foi realizada através da determinação de açúcares redutores (DNS). Para isto, foi preparado o reagente de DNS, misturando uma solução de DNS (10 g de DNS dissolvidos em 200 mL de NaOH 2 M e 800 mL de água destilada) com uma solução de tartarato de sódio e potássio (300g de tartarato de sódio e potássio dissolvidos em 500 mL de água destilada aquecida).

Em um tubo de ensaio foram adicionados 0,5 mL do reagente de DNS a 1 mL do sobrenadante. Os tubos foram incubados em banho-maria a 100 °C por 5 minutos e, posteriormente, colocados em banho de água fria para interromper a reação. Foram adicionados 8,5 mL de água destilada aos tubos e, depois, as amostras foram lidas em espectrofotômetro a 540 nm em cubeta de quartzo. A concentração de glicose foi determinada através de curva padrão de glicose (Apêndice A), conforme a Equação 26. As análises foram realizadas em triplicata.

$$\text{Glicose (g.L}^{-1}\text{)} = 1,1941 \cdot \text{ABS}_{540nm} + 0,1 \quad \text{Equação 26}$$

A porcentagem de glicose presente na amostra foi calculada conforme a Equação 27.

$$\% \text{Glicose} = \frac{\text{Glicose (mg.mL}^{-1}\text{)} \cdot 4 \text{ mL}}{10 \text{ mg}} \cdot 100 \quad \text{Equação 27}$$

4.7.7. Lipídios (Extrato Etéreo)

Os lipídios foram quantificados conforme a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959), por meio de uma extração a frio com hexano. A análise foi realizada adicionando-se 50 mg de biomassa seca e macerada a um tubo falcon de 50 mL juntamente com 200 µL de água destilada, 2 mL de metanol e 1 mL de clorofórmio. Os tubos foram homogeneizados em vortex a cada 5 minutos durante 1 hora. A amostra foi centrifugada a 3.000 rpm durante 20 minutos e o sobrenadante foi coletado. A biomassa foi suspensa novamente utilizando metanol e clorofórmio 1:2 e os tubos foram agitados novamente em vortex a cada 5 minutos por 1 hora. Posteriormente, os dois sobrenadantes foram misturados, 1 mL de água destilada foi adicionada e a amostra foi centrifugada a 3.000 rpm durante 20 minutos. Ao final do procedimento, 3 fases foram formadas: uma superior polar, uma central com a biomassa e uma inferior contendo a fração de lipídios (fase orgânica). A fase inferior foi coletada com

auxílio de uma pipeta de *Pasteur* e transferida para uma placa de Petri. A placa foi colocada em estufa a 60°C até peso constante. A concentração de lipídios foi determinada por diferença de peso. As análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de lipídios presente na amostra foi calculada conforme a Equação 28.

$$\%Lipídios = \frac{\text{Óleo (g)}}{\text{Biomassa (g)}} \cdot 100 \quad \text{Equação 28}$$

4.8. Modelagem do Tratamento Terciário com Microalga

4.8.1. Planejamento experimental

Para o presente estudo foi elaborado um método de planejamento experimental denominado delineamento composto central rotacional (DCCR) para 5 variáveis. Consistindo em um planejamento experimental 2^5 com 32 ensaios, mais 10 pontos axiais e 2 pontos centrais, totalizando 44 ensaios (RODRIGUES e IEMMA, 2014). As variáveis independentes estudadas foram luminosidade, pH, concentração de íon amônio, fosfato e quantidade inicial de biomassa. Para cada ensaio foram avaliadas as variações iniciais e finais das concentrações de íon amônio, fosfato, biomassa e DQO (variáveis dependentes). O aparato experimental do planejamento experimental está apresentado na Figura 6.



Figura 6 - Planejamento experimental DCCR do tratamento terciário de efluente com microalga.
(Fonte: Arquivos do autor)

Os valores das variáveis independentes selecionados seguem na Tabela 2, sendo os valores máximos de concentração de fosfato e íon amônio determinados a partir da literatura proposta por Jordão e Pêsoa (2011). A regressão dos dados experimentais foi realizada utilizando o software STATISTICA 10.

Tabela 2 - Níveis codificados e reais das variáveis independentes do planejamento experimental DCCR 2⁵.

Variáveis	-2	-1	0	+1	+2
Luminosidade (lux)	1 ^b	2 ^b	3 ^b	4 ^b	5 ^b
pH	5	6	7	8	9
Concentração de íon amônio (mg.L ⁻¹)	10	20	30	40	50
Concentração de fosfato (mg.L ⁻¹)	1	4	7	10	13
Concentração de biomassa inicial (mg.L ⁻¹)	6170	9670	13170	16670	20170

Números precedidos do coeficiente “b” equivalem a número de lâmpadas.

4.8.2. Treinamento da rede neural

Todos os cálculos da RNA foram realizados utilizando o software matemático *Scilab 6.0.1* com uma caixa de ferramentas *Neural Network Module 2.0*. O modelo da RNA foi treinado utilizando um conjunto de dados simulados e experimentais obtidos do planejamento experimental, totalizando 221 pontos dentre os quais 10% foram escolhidos aleatoriamente para teste da RNA.

Os dados simulados foram obtidos através dos modelos descritos por Pereira (2018) apresentados nas Equações 29 a 33.

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad \text{Equação 29}$$

$$\frac{dN}{dt} = -\rho X \quad \text{Equação 30}$$

$$\frac{dq}{dt} = (\rho - \mu q)(X_0 - N) \quad \text{Equação 31}$$

$$\mu = \mu_{max} \left(1 - \frac{k_q}{q}\right) \quad \text{Equação 32}$$

$$\rho = \rho_{max} \left(\frac{N}{N+k_N}\right) \quad \text{Equação 33}$$

sendo:

$X[gL^{-1}]$ Concentração de biomassa

$\mu[h^{-1}]$ Crescimento específico

$t[h]$ Tempo

$N[gL^{-1}]$ Concentração de nutriente N ou P

$q[gg^{-1}]$	Quantidade celular interna do nutriente
$\mu_{max}[h^{-1}] = 0,4802 \cdot 10^{-1}$	Taxa máxima de crescimento específico
$k_N[gL^{-1}] = 0,1017 \cdot 10^5$	Constante de saturação do nutriente
$\rho[gg^{-1}h^{-1}]$	Taxa de remoção de nutriente
$\rho_{max}[gg^{-1}h^{-1}] = 0,4658 \cdot 10^2$	Taxa máxima de remoção de nutriente
$k_g[gg^{-1}] = 0,4875$	Quantidade celular interna mínima do nutriente

Foi projetada uma rede com função de ativação tangente hiperbólica (*tansig*) e o algoritmo de otimização de *Levenberg-Marquardt* foi aplicado na minimização do erro médio quadrático (MSE). A arquitetura da rede possui 4 neurônios de entrada e 2 de saída, sendo os dados de entrada os valores de luminosidade, concentrações de íon amônio, fosfato e biomassa iniciais. Já os neurônios da camada de saída são representados pelos valores de concentrações de íon amônio e fosfato finais. O desempenho da rede foi testado para um número diferente de neurônios em uma camada oculta. Os parâmetros estabelecidos como critérios de parada de treinamento da RNA estão contidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Critérios de parada de treinamento da RNA.

Parâmetros	Valores
Épocas	500
MSE	10^{-4}
Gradiente	10^{-4}

O melhor desempenho da rede foi determinado a partir do menor valor do erro quadrático médio (MSE) obtido para o teste através da Equação 10 (ZENOOZ *et al.*, 2017).

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (t_i - a_i)^2 \quad \text{Equação 34}$$

em que N é o número total de dados, t_i é o valor de saída real e a_i é o valor de saída dado pela rede.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise do tratamento terciário com microalga

Na Figura 7 é possível observar o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* durante o tratamento terciário do efluente.

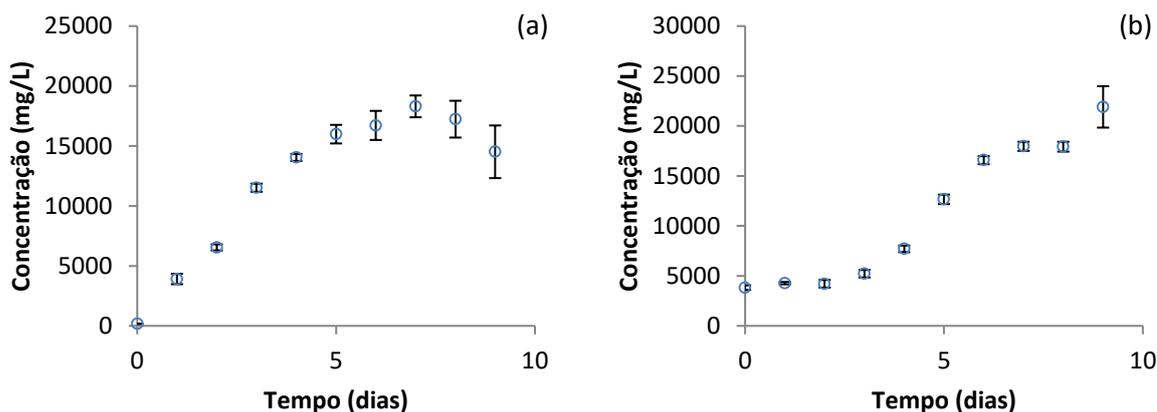


Figura 7 - Curva da cinética de crescimento microalgal durante o tratamento terciário do efluente no período do verão (a) e inverno (b).

Na Figura 7 (a), relativa ao período de verão, verifica-se que a microalga não apresentou a fase de adaptação (fase lag), mostrando-se bastante adaptada ao meio. No sétimo dia de tratamento, a microalga apresentou quantidade máxima de biomassa, equivalendo a aproximadamente 18 g/L. Posteriormente, iniciou-se a fase de morte, em que a concentração de biomassa começou a diminuir. Oshe *et al.* (2008) ao estudarem o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em cultivo autotrófico, reportaram em seu estudo uma curva de crescimento semelhante, com fase exponencial tênue e fase estacionária próxima ao 9º dia de cultivo.

Já na Figura 7 (b), verifica-se que, ao contrário do verão, no inverno, a fase de adaptação durou cerca de dois dias e até o nono dia de tratamento a fase de morte ainda não havia sido atingida. A partir do sétimo dia foi atingida a fase estacionária de crescimento celular com uma concentração de aproximadamente 18 g/L, concentração máxima também atingida no período de verão. O aumento da biomassa no 9º dia pode ser característico de um erro de medição, ocasionado pelo ponto de coleta da alíquota por ter uma quantidade maior de biomassa e a baixa homogeneização do meio. Segundo Oshe *et al.* (2008), é difícil avaliar o

crescimento microalgal, uma vez que a composição celular e o momento de coleta das amostras afetam consideravelmente a estimativa da densidade celular.

A Figura 8 apresenta a variação de fosfato durante o tratamento terciário de efluente, em que no verão houve remoção de fosfato pela microalga até o quarto dia de tratamento. Depois, a concentração de fosfato manteve-se praticamente constante, atingindo uma remoção máxima de 72%. Já no inverno, como observado na Figura 8 (b), até o quinto dia de tratamento o fosfato foi quase que totalmente consumido pela microalga (95% de remoção). Depois disso, a concentração de fosfato permaneceu praticamente constante, atingindo uma remoção máxima de 97% ao final do tratamento. Com base nesses resultados, a remoção máxima de fosfato se deu entre o quarto e quinto dia de tratamento, em ambas as estações.

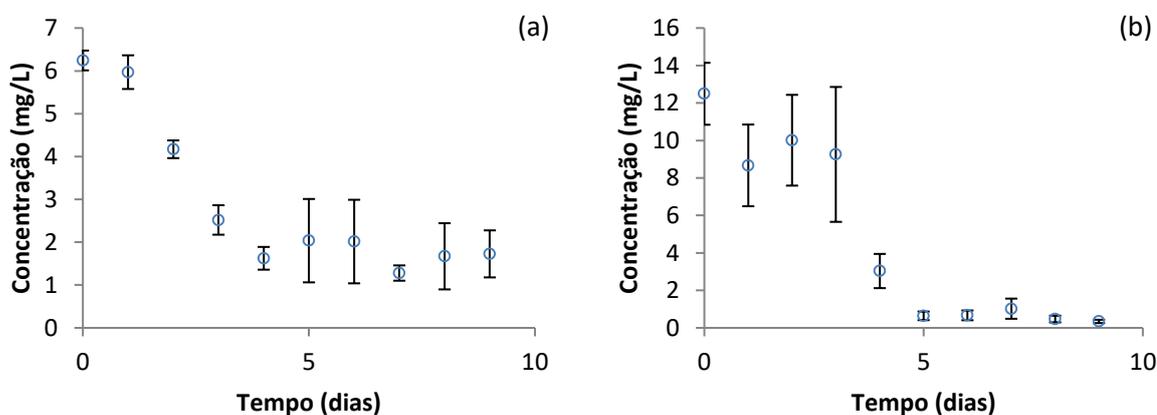


Figura 8 - Curva da cinética de remoção de fosfato por microalga no verão (a) e inverno (b).

A Figura 9 apresenta a variação de íon amônio durante o tratamento terciário de efluente. No terceiro dia, a remoção do íon amônio decresce numa taxa maior que os outros próximos dias, atingindo remoção de 100% no nono dia de tratamento. Comparando com a remoção de fosfato, na Figura 8 (a), quando essa se tornou mínima, a velocidade de remoção de íon amônio também decresceu, isso corrobora com o fato de que há interação na remoção desses dois nutrientes. Além disso, o crescimento de biomassa também foi influenciado, chegando à fase de morte. Segundo Pereira (2016), as microalgas fazem a assimilação de nutrientes por difusão molecular que podem ser afetados pelo gradiente de concentração entre o meio e o interior das células, pelo coeficiente de difusão do nutriente, ou pela espessura da camada-limite difusiva. Também como descritos nos resultados de Pereira (2016), no presente trabalho, as maiores quantidades de fósforo favoreceram a remoção de nitrogênio e o crescimento microalgal.

Já no período de inverno, como pode ser observado na Figura 9 (b), durante o 1º dia de tratamento houve maior velocidade de remoção de íon amônio, porém, durante os próximos dias, a concentração de íon amônio decresceu atingindo 100% de remoção ao final do 9º dia de tratamento.

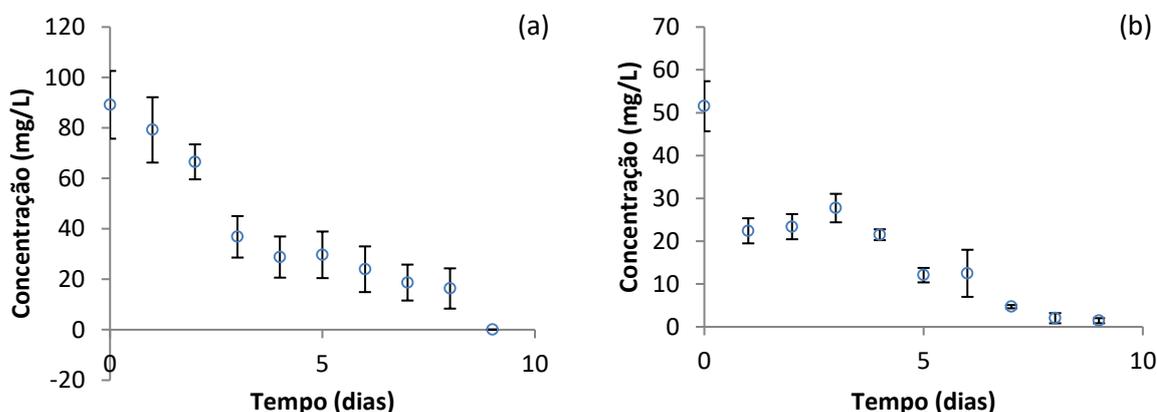


Figura 9 - Curva da cinética de remoção de íon amônio por microalga no verão (a) e inverno (b)

Ao comparar o crescimento da biomassa e as remoções de fosfato e íon amônio do efluente, verificou-se que a microalga apresentou melhor desempenho no período de inverno. Porém, vale ressaltar que as condições do efluente também foram diferentes, apresentando maior concentração de fosfato e menor concentração de íon amônio iniciais. Como já discutido anteriormente, o fósforo é caracterizado como nutriente limitante do processo, sua maior quantidade durante o inverno favoreceu a velocidade de remoção dos nutrientes.

Outro fator que pode ter influenciado no processo foi a incidência de luz. Apesar da pouca diferença de temperatura (2°C) registrada durante o tratamento nas duas estações, foi registrada uma incidência média de 78 klux no verão e 42 klux no inverno. Russo (2011), por sua vez, também estudou a remoção de nutrientes de efluente utilizando *Chlorella vulgaris* no verão e no inverno, e reportou resultados semelhantes aos deste trabalho. O autor observou que no período de inverno a microalga apresentou eficiência de remoção igual ou superior a do verão. Segundo Seyfabadi *et al.* (2011), a baixa luminosidade induz a síntese de unidades fotossintéticas maiores para ajudar na colheita de luz, o que, conseqüentemente, demanda maior quantidade de nutrientes e energia.

A Tabela 4 descreve os dados de remoção de DQO do efluente pela microalga. Após nove dias de tratamento no verão foi possível reduzir a concentração de DQO em aproximadamente 33% em relação ao teor inicial. Segundo Lopes *et al.* (2015), ao submeter a

microalga *Chlorella vulgaris* a altas concentrações de nutrientes, a eficiência de remoção de DQO diminui, por exemplo, o cultivo dessa microalga em vinhaça pura apresentou uma remoção de apenas 25% de DQO. Já o cultivo em vinhaça diluída apresentou remoção acima de 80%. No período de inverno, a carga orgânica do efluente aumentou. Esse fato pode ser resultado da pequena granulometria da microalga não ter favorecido a sua completa remoção do efluente, sendo o microrganismo contabilizado juntamente com a carga orgânica. O estudo de biorremediação com microalgas realizado por Bjerk (2012) também apresentou aumento da DQO ao fim do tratamento, segundo o autor, esse resultado está associado ao resquício de biomassa microalgal não recuperada.

Tabela 4 - Resultados de remoção de DQO por microalga *C. vulgaris*.

Efluente	Concentração (mg.L⁻¹)	Média	Desvio	Remoção (%)
Verão				
I1	271,08	268,14	2,94	32,85
I2	265,21			
F1	194,73	180,05	14,68	
F2	165,37			
Inverno				
I1	300,44	306,32	5,87	-33,55
I2	312,19			
F1	400,28	409,29	8,81	
F2	417,90			

I: efluente antes do tratamento terciário; F: efluente após o tratamento terciário; 1: alíquota 1; 2: alíquota 2.

5.2. Modelagem do tratamento terciário com microalga

5.2.1. Planejamento Experimental

Os valores codificados de luz, pH, íon amônio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) e biomassa inicial (B_i), juntamente com os resultados experimentais de pH, remoção de íon amônio (RN%), remoção de fosfato (RP%), remoção de DQO (RDQO%) e crescimento de biomassa (CB%) são apresentados na Tabela 5.

Os resultados mostram os efeitos individuais das combinações das variáveis de teste. A melhor condição de tratamento foi obtida no ensaio 4, com uma remoção de 100% de íon amônio, 88% de fosfato, 87% da DQO e crescimento de biomassa superior a 600%. Nesse caso, evidenciou-se que a melhor condição de tratamento aconteceu nas condições de luminosidade 1110 lux, pH 8, 20 mg.L⁻¹ de NH_4^+ , 4 mg.L⁻¹ de PO_4^{3-} e 9670 mg.L⁻¹ de

biomassa inicial. Destacando que esse foi o único ensaio com pH final básico, caracterizando caráter básico de eficiência no cultivo da microalga *Chlorella vulgaris*.

Tabela 5 - Matriz de experimentos DCCR 2⁵ para tratamento terciário de efluente sanitário com *C. vulgaris*.

Ensaio	Luz	pH	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	B _i	pH	RN%	RP%	RDQO%	CB%
1	-1	-1	-1	-1	-1	6	24,30	22,48	0,07	167,35
2	1	-1	-1	-1	-1	6	-27,93	54,12	28,04	325,50
3	-1	1	-1	-1	-1	7	100,00	71,09	0,07	325,50
4	1	1	-1	-1	-1	8	100,00	88,45	87,08	645,57
5	-1	-1	1	-1	-1	6	31,56	23,26	9,39	242,66
6	1	-1	1	-1	-1	6	13,26	31,74	15,61	122,16
7	-1	1	1	-1	-1	7	96,64	35,98	31,14	88,276
8	1	1	1	-1	-1	6	94,55	36,37	-164,61	412,11
9	-1	-1	-1	1	-1	6	-11,17	67,45	31,14	137,22
10	1	-1	-1	1	-1	6	-45,25	68,22	31,14	261,49
11	-1	1	-1	1	-1	6	98,60	71,61	18,71	189,94
12	1	1	-1	1	-1	6	85,47	70,84	3,18	295,38
13	-1	-1	1	1	-1	5	-9,35	55,26	-295,12	129,69
14	1	-1	1	1	-1	6	-1,11	57,26	-102,46	299,14
15	-1	1	1	1	-1	6	97,20	83,80	43,57	182,41
16	1	1	1	1	-1	7	100,00	83,19	-6,14	468,59
17	-1	-1	-1	-1	1	6	16,75	30,58	-46,53	107,51
18	1	-1	-1	-1	1	6	24,30	41,00	-27,89	197,06
19	-1	1	-1	-1	1	7	100,00	51,80	0,07	100,95
20	1	1	-1	-1	1	6	98,32	59,90	83,97	249,49
21	-1	-1	1	-1	1	5	19,55	12,84	68,43	127,16
22	1	-1	1	-1	1	6	23,74	20,55	87,08	146,82
23	-1	1	1	-1	1	6	84,91	22,48	83,97	116,24
24	1	1	1	-1	1	6	93,43	28,66	15,61	319,38
25	-1	-1	-1	1	1	6	22,90	65,90	-6,14	159,93
26	1	-1	-1	1	1	6	11,45	68,84	52,89	260,41
27	-1	1	-1	1	1	6	98,32	68,22	59,11	68,19
28	1	1	-1	1	1	6	94,97	67,50	-27,89	194,88
29	-1	-1	1	1	1	6	30,44	49,09	-83,82	127,16
30	1	-1	1	1	1	6	-12,15	55,57	59,11	260,41
31	-1	1	1	1	1	6	96,50	59,73	-65,17	52,90
32	1	1	1	1	1	7	100,00	98,46	-77,60	426,42
33	-2	0	0	0	0	6	79,51	51,29	9,39	135,00
34	2	0	0	0	0	6	89,19	59,67	59,11	408,72
35	0	-2	0	0	0	6	-42,64	43,36	-149,07	121,18
36	0	2	0	0	0	7	100,00	92,07	52,89	403,19
37	0	0	-2	0	0	6	100,00	-21,88	40,47	176,48
38	0	0	2	0	0	6	73,85	23,96	-220,54	253,89
39	0	0	0	-2	0	6	69,83	-52,66	-52,75	132,24
40	0	0	0	2	0	6	100,00	63,33	74,65	187,54
41	0	0	0	0	-2	6	76,72	55,70	93,29	401,63
42	0	0	0	0	2	5	84,17	51,07	-21,67	136,49
43	0	0	0	0	0	6	78,21	48,21	24,93	229,01
44	0	0	0	0	0	6	80,44	43,36	43,57	220,72

RN: remoção de íon amônio; RP: remoção de fosfato; RDQO: remoção da DQO; CB: crescimento de biomassa microalgal.

Para ser possível avaliar quais variáveis interferem em cada uma das respostas e de que forma isso acontece, realizou-se um teste de variância ANOVA no qual todas as influências significativas, com 90% de confiança, são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Efeitos significativos da Análise de variância (ANOVA) para o tratamento terciário de efluentes com *C. vulgaris*.

Fator	Efeito	Coefficiente de Regressão	p-valor (<0.10)
pH			
Intercessão	6.078125	6.078125	0.000000
pH^L	0.525396	0.262698	0.000589
Bi^L	-0.248347	-0.124173	0.072531
(NH₄⁺/PO₄³⁻)^L	0.312500	0.156250	0.053464
(PO₄³⁻/Bi)^L	0.312500	0.156250	0.053464
RN%			
Intercessão	68.2179	68.21789	0.000089
pH^L	81.5863	40.79317	0.000000
pH^Q	-19.9597	-9.97984	0.012712
RP%			
Intercessão	53.8693	53.86929	0.000269
pH^L	17.9986	8.99932	0.003598
(NH₄⁺)^Q	-14.3279	-7.16396	0.036010
(PO₄³⁻)^L	33.9618	16.98088	0.000003
(PO₄³⁻)^Q	-12.8096	-6.40482	0.058474
(NH₄⁺/PO₄³⁻)^L	12.5821	6.29106	0.063720
RDQO%			
(NH₄⁺)^L	-59.5142	-29.7571	0.025615
CB%			
Intercessão	220.2967	220.2967	0.000200
Luz^L	148.3466	74.1733	0.000001
pH^L	80.1259	40.0629	0.001414
Bi^L	-92.7498	-46.3749	0.000344
(Luz/pH)^L	75.8187	37.9094	0.007189
(pH/Bi)^L	-48.7858	-24.3929	0.070317
(NH₄⁺/PO₄³⁻)^L	57.7125	28.8563	0.034659

L: efeito linear; Q: efeito quadrático; Bi: biomassa; RN: remoção de íon amônio; RP: remoção de fosfato; RDQO: remoção da DQO; CB: crescimento de biomassa microalgal.

Esses resultados indicam que a remoção do íon amônio é controlada somente pelos valores de pH, assim como a remoção de DQO é controlada somente pela concentração de íon amônio. Já a remoção de fosfato e o crescimento de biomassa são influenciados por diversos fatores. A remoção de fosfato sofre maior influência da concentração do próprio fosfato, sendo esta causada por um efeito linear positivo. Já a intensidade de luz é o fator que mais influencia no crescimento da biomassa, sendo este também um efeito linear positivo. A maior influência da intensidade da luz no crescimento da biomassa ocorre porque a luz é a fonte

básica de energia das microalgas indispensável para fotossíntese e essencial para o crescimento fotoautotrófico (WAHIDIN *et al.*, 2013).

Além disso, a relação entre íon amônio e fosfato causou influência na variação do pH, na remoção do fosfato e no crescimento da biomassa. Segundo resultados obtidos por Choi e Lee (2015), aumentar a relação N/P até 10 aumenta a produção de biomassa continuamente, assim como um maior conteúdo de P na água forneceu maior produtividade de biomassa que um maior conteúdo de N. Neste mesmo estudo, os autores concluíram que a remoção de P está fortemente relacionada com a relação N/P e altas concentrações de N causaram uma diminuição na remoção de P, o que confirma a influência negativa de altas concentrações de amônio na remoção de fosfato obtido no presente trabalho.

O modelo matemático que representa o tratamento terciário de efluente sanitário com a microalga *C. vulgaris* em função das variáveis de teste na região experimental é expresso pelas equações 35 a 39.

$$Y_{pH} = 6.078 + 0.263X_{pH} - 0.124X_{Bi} + 0.156X_N X_P + 0.156X_P X_{Bi} \quad \text{Equação 35}$$

$$Y_{RN} = 68.218 + 40.793X_{pH} - 9.980X_{pH}^2 \quad \text{Equação 36}$$

$$Y_{RP} = 53.869 + 8.999X_{pH} - 7.164X_N^2 + 16.981X_P - 6.405X_P^2 + 6.291X_N X_P \quad \text{Equação 37}$$

$$Y_{RDQO} = -29.757X_N \quad \text{Equação 38}$$

$$Y_{CB} = 220.297 + 74.173X_{Luz} + 40.063X_{pH} - 46.375X_{Bi} + 37.909X_{Luz} X_{pH} - 24.393X_{pH} X_{Bi} + 28.856X_N X_P \quad \text{Equação 39}$$

A partir do modelo simplificado, traçou-se às superfícies de resposta como mostrado nas Figuras 10 a 13.

Na Figura 10, os maiores valores de pH e de concentração inicial de fosfato fornecem a máxima remoção de íon amônio. Esse comportamento foi verificado no tratamento do efluente durante o verão e inverno. Já que no inverno a maior concentração de fosfato favoreceu a velocidade na remoção de íon amônio.

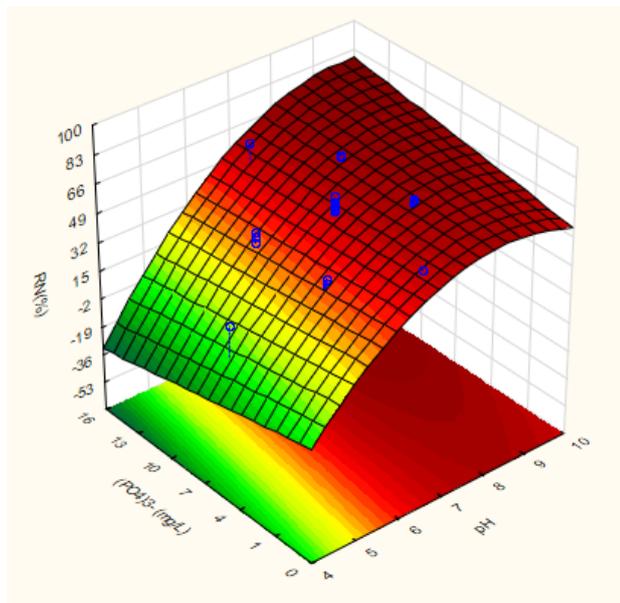


Figura 10 - Superfície de resposta para a remoção de íon amônio em função dos níveis de pH e fosfato iniciais.

O mesmo comportamento apresentado na Figura 10 é verificado na Figura 11, a qual a máxima remoção de fosfato ocorre nas maiores concentrações iniciais de fosfato em pH próximo a 10. Sendo evidenciado o comportamento limitante do fósforo no tratamento terciário de efluentes com microalgas.

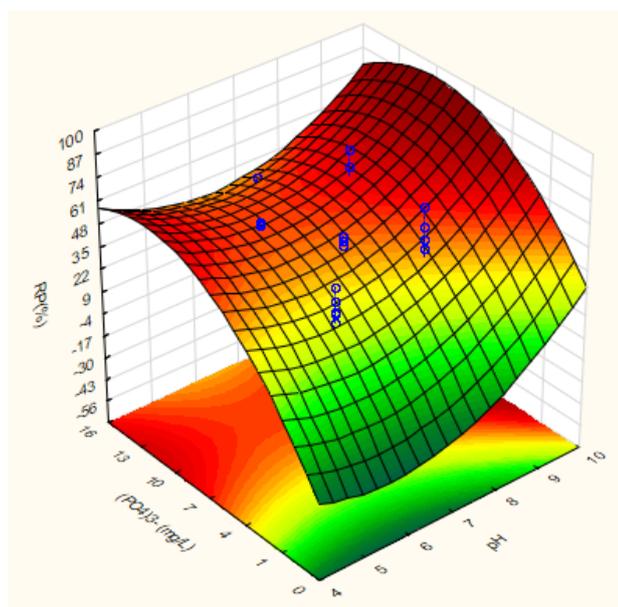


Figura 11 - Superfície de resposta para a remoção de fosfato em função dos níveis de pH e fosfato iniciais.

De acordo com o gráfico da Figura 12, a maior eficiência de remoção de DQO aconteceu em valores de concentração de íon amônio entre 20 e 30 mg/L e alta incidência luminosa. Isso corrobora com os resultados descritos no tratamento terciário, já que no

período de inverno, quando a incidência de luz diminuiu cerca de 50%, a eficiência de remoção de DQO também diminuiu.

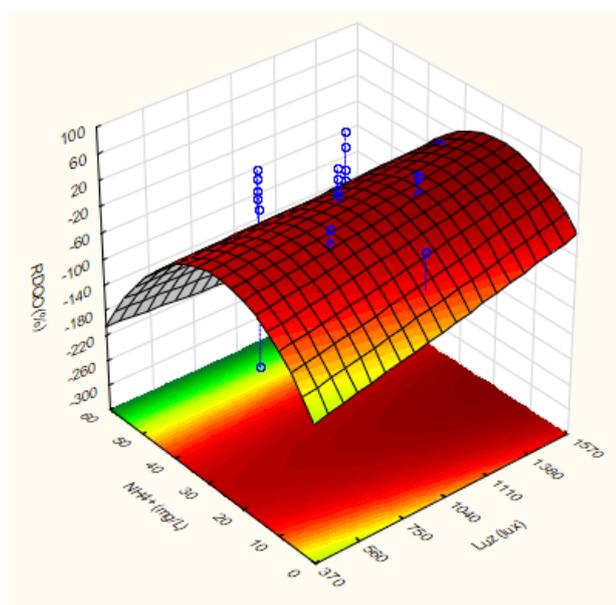


Figura 12 - Superfície de resposta para a remoção de DQO em função dos níveis de luz e íon amônio iniciais.

Na Figura 13, ao analisar o crescimento da biomassa microalgal, percebeu-se que o seu crescimento é influenciado positivamente pelo aumento da incidência luminosa, o que já era esperado se tratando de um microrganismo fotossintético.

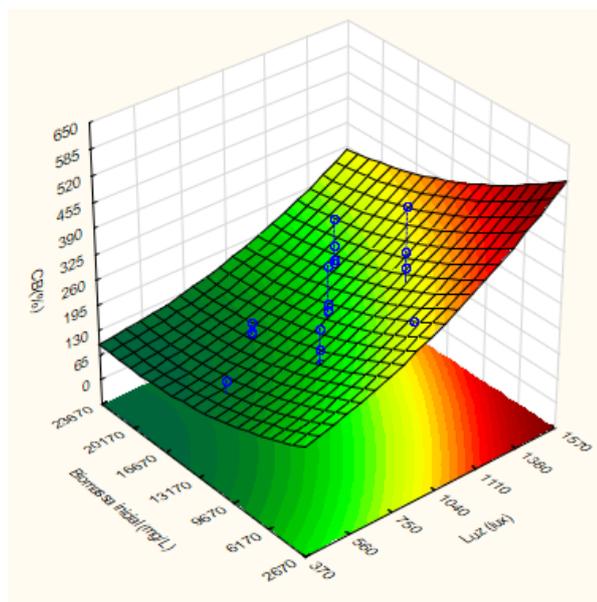


Figura 13 - Superfície de resposta para o crescimento de biomassa em função dos níveis de luz e biomassa iniciais.

5.2.2. Rede Neural

As redes neurais apresentam a característica de aprender por meio de exemplos, ou seja, a rede absorve dados e a partir deles modifica seus parâmetros (BRAGA *et al.*, 2012). Para isto, o conjunto de treinamento deve conter um número estatisticamente significativo de dados em estudo, capazes de constituir uma amostra representativa do problema (SANTOS *et al.*, 2005). Dessa forma, houve a necessidade de unir aos dados experimentais, os dados simulados do processo, uma vez que a quantidade necessária de experimentos inviabilizaria o projeto.

Para definição da topologia mais adequada, vários modelos de RNA foram testados alterando o número de neurônios da camada oculta entre 1 e 10. A Figura 14 (a) apresenta a variação de MSE encontrada durante o processo de treinamento da RNA com uma camada oculta. De acordo com os resultados obtidos, o MSE do treinamento decaiu com o aumento do número de neurônios. Segundo a metodologia proposta por Cybenko (1989) o número de neurônios na camada oculta deve se aproximar ao valor de $(2i+1)$, sendo i o número de variáveis de entrada. Porém, para definir a melhor arquitetura da RNA, os MSE do teste também foram analisados. A Figura 14 (b) apresenta a variação do MSE de teste com o número de neurônios da camada oculta.

Na Figura 14 (b) o menor valor do MSE do teste foi atingido com 7 neurônios na camada oculta, sendo essa a arquitetura escolhida para modelar as diferentes condições ambientais alimentadas na rede. A Figura 15 ilustra a arquitetura de rede que melhor modelou o processo de tratamento terciário de efluente com microalga.

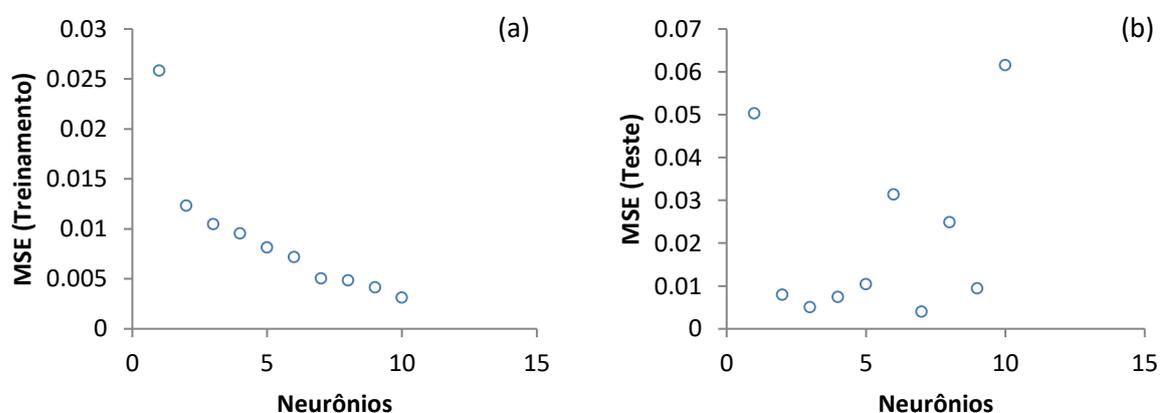


Figura 14 - Variação do MSE de treinamento (a) e teste (b) sobre a influência do número de neurônios para a RNA com uma camada oculta.

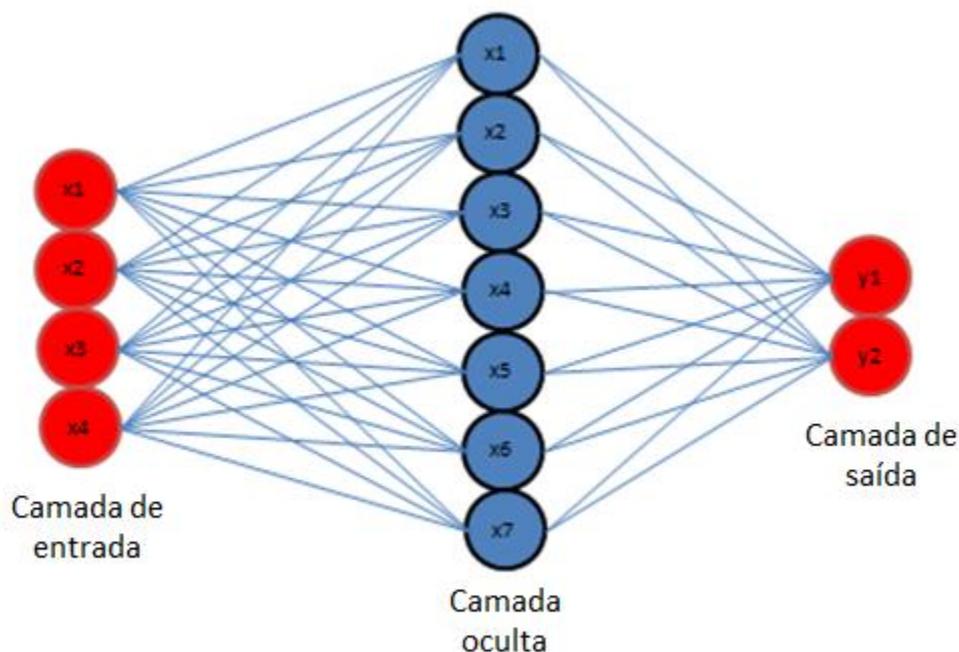


Figura 15 - Arquitetura de RNA para predição do tratamento terciário de efluente com *C. vulgaris*.

O controle de desempenho das saídas da RNA foi avaliado de acordo com o coeficiente de correlação (R^2), entre o conjunto de dados de saída reais e estimados pela rede na fase de treinamento. A Figura 16 (a) indica que existem altas correlações ($R^2=0.94$) entre os valores experimentais e simulados para os dados de remoção de íon amônio. Já as correlações apresentadas pelos valores de remoção de fosfato foram menores ($R^2=0.86$), como apresentado na Figura 16 (b), em decorrência dos erros experimentais associados.

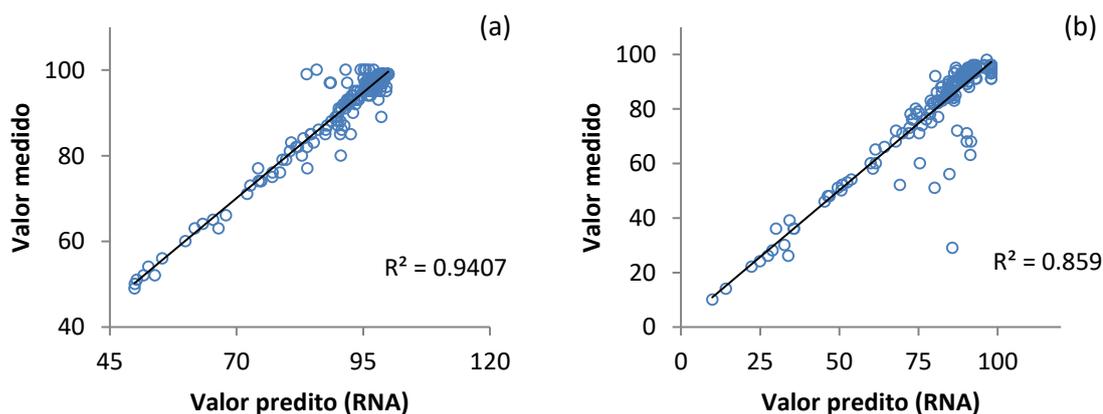


Figura 16 - Gráfico de dispersão no treinamento da RNA para o conjunto de dados medidos e previstos de remoção de íon amônio (a) e fosfato (b).

O controle de desempenho das saídas da RNA associadas ao teste foi avaliado de acordo com o coeficiente de correlação (R^2), entre o conjunto de dados de saída reais e estimados pela rede na fase de teste. A Figura 17 indica que existem altas correlações entre os

valores experimentais e simulados para os dados de remoção de íon amônio e fosfato ($R^2 > 0.95$). Demais dados obtidos na modelagem da RNA estão no Apêndice B.

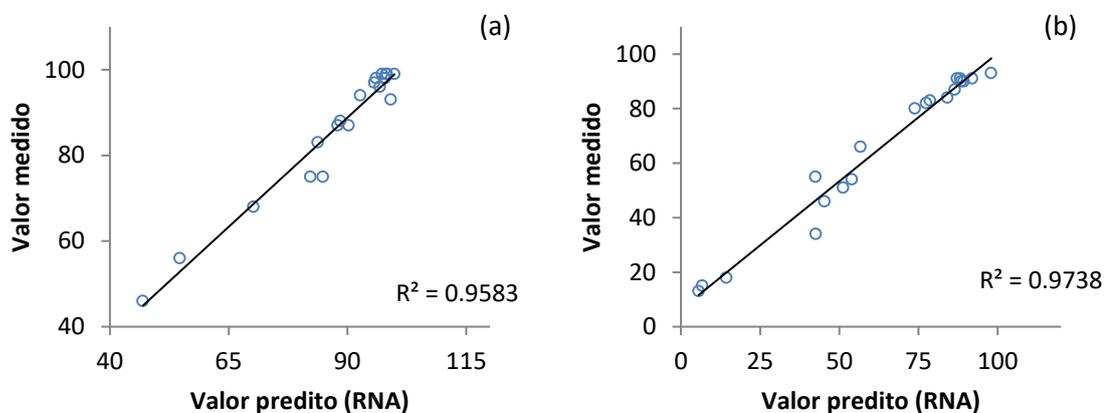


Figura 17 - Gráfico de dispersão no teste da RNA para o conjunto de dados medidos e previstos de remoção de íon amônio (a) e fosfato (b).

As altas correlações entre os valores experimentais e simulados para todos os parâmetros de saída indicam que os dados foram distribuídos uniformemente em torno da linha de paridade ($y = x$). Segundo Kasabov (1998), quando o valor do MSE é mínimo e o R^2 é alto o modelo é considerado muito bom.

Podder e Majumder (2016) utilizaram uma RNA para simular a remediação de águas residuais com microalgas. Os autores estudaram a remoção dos íons arsênio As(III) e As(V), utilizando 227 pontos de dados para alimentar a rede. A rede com 4 variáveis de entrada (pH, inóculo, tempo de contato e concentração inicial de arsênio) foi treinada por meio do algoritmo *Levenberg-Marquardt* e função de ativação *tansig*. A rede com uma camada oculta de 5 neurônios foi a de melhor ajuste. Uma comparação entre os dados previstos e os dados experimentais comprovou o bom ajuste da rede ($R^2=0.9998$), demonstrando que as RNAs são capazes de prever a fitorremediação de águas residuais com microalgas.

5.3. Destinação da biomassa microalgal

5.3.1. Secagem da biomassa microalgal

A Figura 18 mostra as variações do adimensional de umidade (X/X_0) com o tempo de secagem para as espessuras de 1 e 2 cm de biomassa. Neste resultado, foi observado que o tempo de operação diminui com a diminuição da espessura de biomassa. O tempo necessário para atingir a umidade de 0,006 kg/kg (b.s.) foi reduzido em 48% com a diminuição da espessura de biomassa na secagem natural. Todavia, apesar da demanda maior de tempo de

secagem para a espessura de 2 cm, a biomassa não apresentou mau odor ou mofo. Sahoo *et al.* (2017) fizeram o estudo da secagem solar de microalgas em diferentes espessuras de biomassa (1, 2, 3, 4 e 5 cm) e constataram que acima de 3 cm de biomassa o tempo de secagem foi muito grande e houve formação de bolor. Os autores descrevem no trabalho que a secagem ao sol foi 3 vezes mais rápida que na sombra. Contudo, houve degradação da *Chlorofila* e dos óleos devido à exposição à radiação.

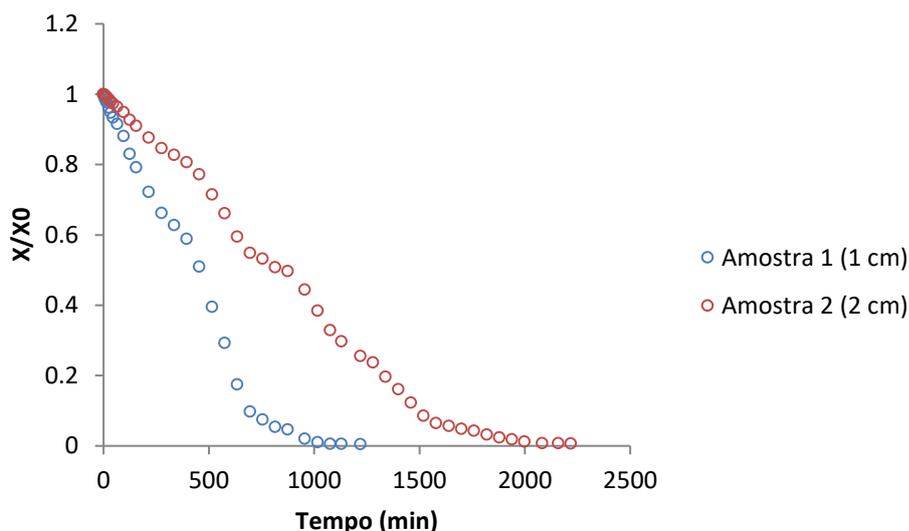


Figura 18 - Curvas do adimensional de umidade das amostras de *Chlorella vulgaris* em função do tempo para secagem natural.

O conteúdo de umidade originado durante a secagem nas duas espessuras de biomassa foi adimensionado e ajustado aos modelos matemáticos propostos (Equações 2, 3 e 4). Os valores da constante de secagem e dos parâmetros de ajuste para cada modelo utilizado, bem como os valores de R^2 , estão apresentados na Tabela 7.

O modelo de Page (Equação 4) forneceu valor da constante de secagem não significativo ($p > 0,05$) na análise para espessura de 1 cm, logo foi retirado do estudo uma vez que não apresenta significância estatística. Costa (2014), ao estudar a secagem da *Spirulina sp.*, também não descreveu valores estatisticamente significativos para os parâmetros dos modelos de Page.

Tabela 7 - Resultados estatísticos obtidos a partir dos modelos de secagem nas diferentes espessuras de biomassa.

Modelo	Constantes (min^{-1})	Espessura (cm)	R ²
Handerson-Pabis	K=0,002; a=1,053	1 cm	0,977
	K=0,001; a=1,072	2 cm	0,977
Newton	K=0,002	1 cm	0,974
	K=0,001	2 cm	0,973
Page	-	1 cm	-
	K=7.10 ⁻⁶ ; n=1,719	2 cm	0,997

Com base na Figura 19, observou-se que para a espessura de secagem de 1 cm, apesar dos modelos de Handerson-Pabis e Newton terem apresentaram bons coeficientes de determinação ($R^2 > 0,97$), nenhum dos modelos se ajustou bem aos dados experimentais, como pode ser observado na Figura 19 (a). Já para a secagem de *Chlorella vulgaris* com espessura de 2 cm de biomassa o modelo de Page se ajustou perfeitamente aos dados experimentais, como observado na Figura 19 (b), além disso esse foi o modelo que apresentou maior coeficiente de determinação ($R^2 = 0,997$).

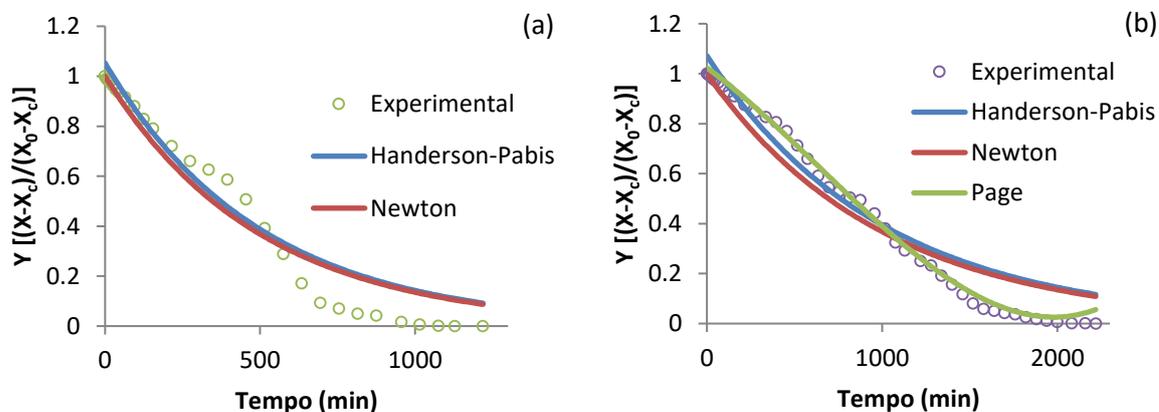


Figura 19 - Ajuste dos modelos de secagem aos dados experimentais para espessura de biomassa de 1 cm (a) e 2 cm (b).

5.3.2. Caracterização e possíveis destinos da biomassa microalgal

A composição da biomassa seca proveniente do tratamento terciário com microalgas está apresentada na Figura 20. A biomassa final apresentou grande quantidade de carboidratos solúveis, contribuindo para que fosse um componente majoritário. O cultivo de microalgas em efluentes com alta carga orgânica, como o efluente sanitário, proporciona uma biomassa microalgal rica em carboidratos devido à alta quantidade de carbono orgânico total disponível

(LAW *et al.*, 2013). Dos 29% de carboidratos presentes na biomassa microalgal, grande parte é glicose (23%). Souza *et al.* (2016), ao cultivarem a microalga da espécie *Chlorella sorokiniana*, constataram que a maior parte dos carboidratos presentes na biomassa eram glicose; e o segundo açúcar mais abundante era a galactose. Entretanto, essa glicose era, em sua maioria, proveniente do amido. Ho *et al.* (2013) afirmam que os carboidratos que compõem a biomassa microalgal estão dispostos em termos de amido e celulose.

A alta quantidade de carboidratos presente na biomassa torna-a um excelente substrato para produção de bioetanol, principalmente pela ausência de lignina. Como os carboidratos presentes nas microalgas verdes são principalmente o amido, armazenado nos cloroplastos, e a celulose, armazenada na parede celular, que não são prontamente fermentáveis para produção de etanol por microrganismos, estes precisam passar por um processo de hidrólise (HO *et al.*, 2013). Ao estudarem a viabilidade de produção de bioetanol, a partir da biomassa microalgal por hidrólise ácida diluída, Ho *et al.* (2013) obtiveram rendimento superior a 85% em 12 horas de fermentação. Os autores concluíram que esse processo de produção de bioetanol pode ser utilizado para produção em larga escala desde que microalgas ricas em carboidratos sejam utilizadas como matéria-prima.

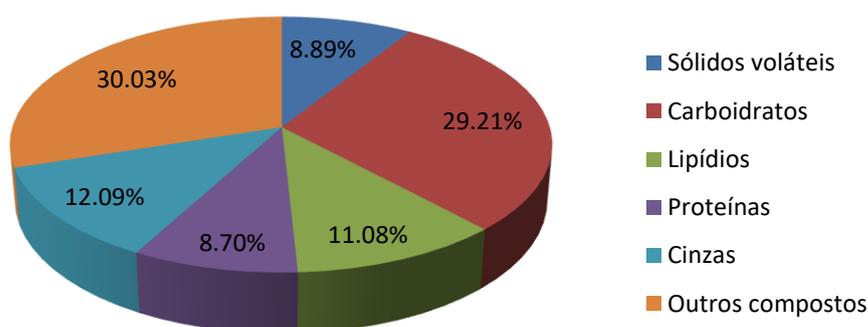


Figura 20 - Composição centesimal da biomassa de *Chlorella vulgaris*.

Quanto ao resultado do conteúdo lipídico (11%), esse está próximo do esperado para biomassa microalgal proveniente de tratamento de efluentes, variando entre 13 a 30%. Também o método de extração exerce grande influência na contabilização dos lipídios (SOUSA, 2014). Já a baixa concentração de proteína (8,7%), pode ser decorrente do cultivo

mixotrófico, uma vez que este cultivo caracterizado por apresentar biomassa microalgal com menores teores de proteínas e maiores teores de carboidratos (VIDOTTI, 2015).

Apesar da baixa quantidade de proteínas obtidas, elas são compostas geralmente por aminoácidos essenciais, favorecendo que a biomassa seja uma ótima alternativa para suplementação em ração animal. Michelon *et al.* (2015) demonstraram que a biomassa microalgal proveniente de um tratamento terciário de efluente é rica em proteínas e carboidratos que são de extremo interesse na indústria de rações. Logo, a produção de alimentos a partir da biomassa de microalgas pode ocorrer simultaneamente aos processos de tratamento terciário. Sorensen *et al.* (2016) utilizaram a microalga *Phaeodactylum tricorutum* na alimentação de peixes (Salmão Atlântico) e concluíram que a biomassa microalgal utilizada pode substituir até 6% da farinha de peixe sem efeitos adversos sobre a digestão dos nutrientes e crescimento. Cantu *et al.* (2017) avaliou o uso da biomassa de *Chlorella* sp. como complemento para ração animal e concluíram que adicionar a biomassa microalgal na ração eleva o teor proteico da mesma, sendo este um bom suplemento para ração animal pisciana. Além disso, Ramos *et al.* (2017) afirmaram que a suplementação da dieta de organismos aquáticos com algas, microalgas ou leveduras podem trazer benefícios, como a redução dos efeitos das micotoxinas, e o crescimento corporal.

O resultado da porcentagem de 12,09% de cinzas presente na biomassa microalgal do presente trabalho é semelhante ao obtido por Rodrigues (2017) de 12,3%. As cinzas representam a composição mineral (matéria inorgânica) presente no material, sendo o fósforo, ferro, manganês, cobre, zinco, magnésio e cálcio, os principais sais minerais encontrados na microalga *Chlorella* (BERTOLDI *et al.*, 2008).

Para a biomassa microalgal, o resultado encontrado foi de 91% de sólidos totais e baixa quantidade de sólidos voláteis (8,9%). Essa baixa quantidade de sólidos voláteis pode dificultar processos anaeróbios de bioconversão, uma vez que esses processos só acontecem na fração orgânica do substrato que corresponde aos sólidos voláteis do material (LEITE e POVINELLI, 1999). Entretanto, esses sólidos voláteis podem ser convertidos em biogás, já que o biogás é uma das aplicações da biomassa mais atraentes para geração de energia em ETE que inclui sistemas biológicos anaeróbios (TORRES *et al.*, 2014). Mahdy *et al.* (2016) estudaram o uso da biomassa de *Chlorella vulgaris* cultivada em efluente urbano para produção de biogás, e a partir da digestão anaeróbica da biomassa hidrolisada obtiveram uma produção de metano alta e estável.

Além dos componentes já descritos, 30% da biomassa é constituída de outros compostos referentes às fibras e aos pigmentos presentes em quantidades significativas na biomassa microalgal de *Chlorella vulgaris* (MATOS e SANT'ANNA, 2016).

6. CONCLUSÃO

O tratamento terciário de efluente com microalga *Chlorella vulgaris* forneceu uma eficiência de remoção de 72% de fosfato, 100% de íon amônio e 32,8% de DQO no verão. Já no inverno foram obtidas eficiências de remoção de 97% de fosfato e 100% de íon amônio, sendo esse o período que promoveu a maior eficiência de remoção dos nutrientes. Mas, houve aumento da DQO enquanto consequência dos resquícios de biomassa não recuperada. Com isso, a *Chlorella vulgaris* é capaz de promover altas remoções de fosfato (>72%) e íon amônio (>99%), atingindo 18 g/L de biomassa ao final de 9 dias de tratamento.

O planejamento experimental DCCR 2⁵ foi promissor na modelagem do processo de tratamento terciário com microalgas. Além disso, a modelagem da RNA para prever o comportamento de remoção de fosfato e íon amônio do efluente por meio da microalga *Chlorella vulgaris* foi promissora, com R² de teste superior a 0,95. A arquitetura de rede proposta (4:7:2) apresentou alta correlação entre os dados fornecidos a rede e preditos por ela. A implantação da RNA em ETE se apresenta como ótima alternativa de controle de processos biológicos.

A secagem natural da biomassa microalgal mostrou-se bastante eficiente, uma vez que promoveu uma biomassa seca de bom odor e sem presença de bolor em tempo máximo de 33 horas (3 dias). Além disso, esse método de secagem se mostrou uma alternativa de baixo custo para implantação em ETE tendo em vista outros processos. O modelo de Page apresentou ótimo ajuste aos dados de secagem com espessura de biomassa de 2 cm.

A biomassa seca foi analisada para que possíveis destinos pudessem ser identificados. A composição centesimal da biomassa microalga proveniente do tratamento terciário de efluente apresentou 29% de carboidratos, 11% de lipídios e 8,7% de proteínas. Os altos teores de carboidratos sugerem que esta biomassa seja destinada para produção de bioetanol, biogás ou ração animal.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O encaminhamento para os próximos trabalhos os quais serão desenvolvidos abonarão à aplicação da biomassa para produção de bioetanol, biogás ou ração animal. Ou seja, a ideia é partir para uma avaliação do uso da biomassa encontrada na produção de bioetanol e biogás, partindo dos aspectos de rendimento e viabilidade econômica. O objetivo é propor também uma formulação de dieta animal suplementada com microalgas, destacando seu custo/benefício, e quais vantagens obtidas baseadas no desempenho.

Outro encaminhamento é no que tange à implementação da Rede Neural no Sistema de Controle de uma Estação de Tratamento de Efluentes, avaliando seu desempenho e vantagens obtidas após sua implantação. Os estudos de secagem da biomassa parecem ser um aspecto de investigação interessante, a fim de obter um método de secagem mais rápido, de baixo custo, que não cause a degradação da biomassa e possa ser aplicado em grande escala em Estações de Tratamento de Efluente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIÉN, F. G.; GÓMEZ-SERRANO, C.; MORALES-AMARAL, M. M. Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, p. 9013-9022, 2016.
- ALBUQUERQUE, C. G.; TAVARES, R. G.; SILVA, V. P.; BIONE, M. A. A. Relação entre os valores de DQO e DBO da estação de tratamento de esgoto de Peixinhos em Olinda – PE. **JEPEX**, 2009.
- AMBULKAR, A.; NATHANSON, J. A. "wastewater treatment.", Encyclopedia Britannica [on line]. Disponível na internet via periódicos capes. [url:https://academic-eb-britannica.ez20.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/wastewater-treatment/471031](https://academic-eb-britannica.ez20.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/wastewater-treatment/471031). Arquivo capturado em 15 de maio de 2018.
- ANDRADE, D. S.; FILHO, A. C. Microalgas de águas continentais: Potencialidades e desafios do cultivo. Londrina: IAPAR, 2014. 343 p.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists, 1995. Official Methods of Analysis, Gaithersburg, MD, 1995.
- ARAVANTINOU, A. F.; THEODORAKOPOULOS, M. A.; MANARIOTIS, I. D. Selection of microalgae for wastewater treatment and potential lipids production. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 130-134, 2013.
- ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; PERALES J. A. Capability of different microalgae species for phytoremediation process: Wastewater tertiary treatment, CO₂ bio-fixation and low cost biofuels production. **Water Research**, v. 49, p. 465-474, 2014.
- ARCHELA, E.; CARRARO, A.; FERNANDES, F.; BARROS, O. N. F.; ARCHELA, R. S. Considerações sobre a geração de efluentes líquidos em centros urbanos. **Geografia (Londrina)**, v. 12, p. 517-525, 2003.
- BARROS, K. K. S. **Produção de biomassa de *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) para alimentação humana**. 2010. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, Brasil, 2010.
- BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. Teor de clorofila e perfil de sais minerais de *Chlorella vulgaris* cultivada em solução hidropônica residual. **Ciência Rural**, v. 38, p. 54-58, 2008.
- BEUCKELS, A.; SMOLDERS, E.; MUYLAERT, K. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. **Water Research**, v. 77, p. 98-106, 2015.

BJERK, T. R. **Cultivo de microalgas em fotobiorreator e reator misto visando a biorremediação e produção de biocombustíveis**. 2012. 105 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul – RS, Brasil, 2012.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. **Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911–917, 1959.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial – Fundamentos**. 1ed. São Paulo: Blucher, 2001. 254 p.

BRAGA, A. P.; CARVALHO, A. P. L. F.; LUDERMIR, T. B. **Redes Neurais Artificiais: Teoria e Aplicações**. 2 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 248 p.

CANTO, F. Q.; PRIMO, T. A. R. C.; MONTEIRO, I. B.; SILVEIRA, C. B.; NEVES, F. F. Cultivo de *Chlorella sp.* – Substituição de meio de cultura sintético por meio de cultura alternativo: Efluente aquícola. **25º SIC UDESC**, 2015.

CANTU, L. C.; PRADO, M. R.; BALLAO, M. C. R.; RAMALHO, A. M. Desenvolvimento de um complemento para ração animal a partir da biomassa da microalga *Chlorella sp.* **6th International Workshop Advances in Cleaner Production**, São Paulo, Brasil, 2017.

CARVALHO, J.; BORGHETTI, I. A.; CARTAS, L. C.; WOICIECHOWSKI, A. L.; SOCCOL, V. T.; SOCCOL, C. R. Biorefinery integration of microalgae production into cassava processing industry: Potential and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1165-1172, 2018.

CAVALCANTE, E. S. **Desenvolvimento e implementação de um sistema de controle preditivo neural para uma coluna de destilação na separação de propano-propeno**. 2016. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – PB, Brasil, 2016.

CHEN, C.; CHANG, J.; LEE, D. Dewatering and Drying Methods for Microalgae. **Drying Technology**, v. 33, p. 443-454, 2015.

CHEW, K. W.; YAP, J. Y.; SHOW, P. L.; SUAN, N. H.; JUAN, J. C.; LING, T. C.; LEE, D.; CHANG, J. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53-62, 2017.

CHOI, H. J.; LEE, S. M. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 38, p. 761-766, 2015.

CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed. Washington: American Public Health Association, 1998. 1325 p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Resolução n. 430, de 13 de maio de 2011. Diário Oficial da União nº 92, p.89, 16 de maio de 2011.

COSTA, A. S. P. **Modelagem matemática baseada em redes neurais artificiais para monitoramento da estabilidade de emulsões de petróleo**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju-SE, Brasil, 2016.

COSTA, B. R. **Secagem da microalga *Spirulina* em camada delgada utilizando secador com bomba de calor**. 2014. 120 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande – RS, Brasil, 2014.

COSTA, D. M. A.; BARROS JÚNIOR, A. C. Avaliação da Necessidade do Reúso de Águas Residuais. **Holos**, v. 2, p. 81-101, 2007.

CYBENKO, G. Approximation by superpositions of a sigmoidal function. **Mathematics of Control, Signals and Systems**, v. 2, p. 303-314, 1989.

DANESHVAR, E.; ANTIKAINEN, L.; KOUTRA, E.; KORNAROS, M.; BHATNAGAR, A. Investigation on the feasibility of *Chlorella vulgaris* cultivation in a mixture of pulp and aquaculture effluents: Treatment of wastewater and lipid extraction. **Bioresource Technology**, v. 255, p. 104-110, 2018.

DAS, P.; AZIZ, S. S.; OBBARD, J. P. Two phase microalgae growth in the open system for enhanced lipid productivity. **Renewable Energy**, v. 36, p. 2524-2528, 2011.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; NETO, J. A. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel de microalgas: Avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013.

GALARZA, J. I.; DELGADO, N.; HENRÍQUEZ, V. Cisgenesis and intragenesis in microalgae: promising advancements towards sustainable metabolites production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, p. 10225–10235, 2016.

GRASSHOFF, K.; KREMLING, K.; EHRHARDT, M. **Methods of Seawater Analysis**. 3 ed. Weinheim; New York; Chicester; Brisbane; Singapore; Toronto: Wiley-VCH, 1999. 600 p.

GROSS, M.; HENRY, W.; MICHAEL, C.; WEN, Z. Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with *in situ* biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 150, p. 195-201, 2013.

GUÇLU, D.; DURSUN, S. Artificial neural network modelling of a large-scale wastewater treatment plant operation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 33, p. 1051-1058, 2010.

GUILLARD, R. R. L.; LORENZEN, C. J. Yellow green algae with chlorophyllid-c. **Journal of Phycology**, v. 8, p. 10-14, 1972.

GULDHE A.; SINGH B.; RAWAT I.; RAMLUCKAN K.; BUX F. Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. **Fuel**, v. 128, p. 46-52, 2014.

HAMED, M. M.; KHALAFALLAH, M. G.; HASSANIEN, E. A. Prediction of wastewater treatment plant performance using artificial neural networks. **Environmental Modelling & Software**, v. 19, p. 919-928, 2004.

HAN, J.; THOMSEN, L.; PAN, K.; THOMSEN, C. Two-step process: Enhanced strategy for wastewater treatment using microalgae. **Bioresource Technology**, v. 268, p. 608-615, 2018.

HAYKIN, S. **Redes Neurais – Princípios e Prática**. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 2003. 898 p.

HO, S.; HUANG, S.; CHEN, C.; HASUNUMA, T.; KONDO, A.; CHANG, J. Bioethanol production using carbohydrate-rich microalgae biomass as feedstock. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 191-198, 2013.

HOSSEINI, N. S.; SHANG, H.; ROSS, G. M.; SCOTT, J. A. Microalgae cultivation in a novel top-lit gas-lift open bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 432-440, 2015.

JANJAI, S.; BALA, B. K. Solar Drying Technology. **Food Engineering Reviews**, v. 4, p. 16-54, 2012.

JEBALI, A.; ACIÉN, F. G.; GÓMEZ, C.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MHIRI, N.; KARRAY, F.; DHOUB, A.; MOLINA-GRIMA, E.; SAYADI, S. Selection of native Tunisian microalgae for simultaneous wastewater treatment and biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 424-430, 2015.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 6. ed. Rio de Janeiro: ABES, 2011. 1050 p.

KASABOV, N. K. **Foundations of Neural Networks, Fuzzy Systems, and Knowledge Engineering**. 2 ed. Massachusetts: Bradford Book, 1998. 550 p.

KHATAEE, A. R.; ZAREI, M.; POURHASSAN, M. Bioremediation of Malachite Green from contaminated water by three microalgae: Neural Network Modeling. **Clean**, v. 38, p. 96-103, 2010.

KISHORE, G.; KADAM, A. D.; KUMAR, U.; ARUNACHALAM, K. Modeling *Euglena* sp. growth under different conditions using an artificial neural network. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 955-967, 2018.

KUMAR, S.; AHLUWALIA, A. S.; CHARAYA, M. U. Adsorption of Orange-G dye by the dried powered biomass of *Chlorella vulgaris* Beijerinck. **Research Articles**, v. 116, p. 604-611, 2019.

LAW, Y.; JACOBSEN, G. E.; SMITH, A. M.; YUAN, Z.; LANT, P. Fossil organic carbon in wastewater and its fate in treatment plants. **Water Research**, v. 47, p. 5270-5281, 2013.

LEITE, V. D.; POVINELLI, J. Comportamento dos sólidos totais no processo de digestão anaeróbia de resíduos sólidos urbanos e industriais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 3, p. 229-232, 1999.

LOPES, T. S. A.; SILVA, A. L. A.; SILVA, A. F.; DANTAS, G. D.; FERREIRA, W. B. Estudo do potencial de geração de biocombustíveis líquidos a partir de microalgas: Utilização de efluentes agroindustriais e domésticos no desenvolvimento da *Chlorella* sp. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 18, p. 25-36, 2015.

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

MAHDY, A.; BALLESTEROS, M.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. Enzymatic pretreatment of *Chlorella vulgaris* for biogás production: Influence of urban wastewater as a sole nutriente source on macromolecular profile and biocatalyst efficiency. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 319-325, 2016.

MATOS, A. P.; SANT'ANNA, E. S. Composição química e índices nutricionais de seis espécies de microalgas com aplicação em alimentos funcionais, suplementos e nutracêuticos. **AUGM – UNESP**, v.1, 2016.

MENNAA, F. Z.; ARBIB, Z.; PERALES, J. A. Urban wastewater treatment by seven species of microalgae and an algal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics and harvestability. **Water Research**, v. 83, p. 42-51, 2015.

MICHELON, W.; DA SILVA, M. L. B.; MEZZARI, M. P.; BEDENDO, G. C.; SOARES, H. M. Composição celular de microalgas obtidas da fitorremediação de efluentes suinícolas. **IV SIGERA**, Rio de Janeiro, Brasil, 2015.

MJALLI, F. S.; AL-ASHEH, S.; ALFADALA, H. E. Use of artificial neural network black-box modeling for the prediction of wastewater treatment plants performance. **Journal of Environmental Management**, v. 83, p. 329-338, 2007.

MOREIRA, M. C.; CECILIO, R. A.; PINTO, F. A. C.; PRUSKI, F. F. Desenvolvimento e análise de uma rede neural artificial para estimativa da erosividade da chuva para o Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 6, p. 1069-1076, 2006.

MOTA, M. F. S.; SOUZA, M. F.; BON, E. P. S.; RODRIGUES, M. A.; FREITAS, S. P. Colorimetric protein determination in microalgae (Chlorophyta): association of milling and SDS treatment for total protein extraction. **J Phycol**, v. 54, p. 577-580, 2018.

MUJTABA, G.; LEE, K. Treatment of real wastewater using co-culture of immobilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. **Water Research**, v. 120, p. 174-184, 2017.

NURACHMAN, Z.; HARTINI H.; RAHMANYAH, W. R.; KURNIA, D.; HIDAYAT, R.; PRIJAMBOEDI, B.; SUENDOC, V.; RATNANINGSIH, E.; PANGGABEAN, L.M.G.; NURBAITI, S. Tropical marine *Chlorella* sp. PP1 as a source of photosynthetic pigments for dye-sensitized solar cells. **Algal Research**, n.10, p.25–32, 2015.

OSHE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; BRAGA, M. V. C.; CUNHA, P.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Biotemas**, v. 21, p. 7-18, 2008.

OSHE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; CUNHA, P. C. R.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E.; MENDES, L. B. B. Revisão: Sequestro de Carbono realizado por Microalgas e Florestas e a capacidade de produção de Lipídios pelas Microalgas. **INSULA**, n. 36, p. 39-74, 2007.

PEREIRA, J. C. **Tratamento terciário de efluente sanitário utilizando biorreatores com microalga *Chlorella vulgaris***. 2018. 63 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – PEQ-UFS, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE, Brasil, 2018.

PEREIRA, S. F. L. **Cultura de microalgas para remoção de azoto de lixiviados de aterro**. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) – Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2016.

PINHEIRO, E.; RUTHER, R.; LOVATO, A. Aplicabilidade do algoritmo de Levenberg-Marquardt para análise de geração de energia elétrica de um sistema fotovoltaico. **Produção online**, v. 17, n. 4, p. 1204-1217, 2017.

PODDER, M. S.; MAJUMDER, C. B. The use of artificial neural network for modelling of phycoremediation of toxic elements As(III) and As(V) from wastewater using *Botryococcus braunii*. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 155, p. 130-145, 2016.

RAMOS, R. S.; HOSHINO, M. D. F. G.; YOSHIOKA, E. T. O. Levedura e alga na alimentação de pirarucu: efeitos sobre as variáveis hematológicas. **III Jornada Científica**, Embrapa, 2017.

REDAELLI, C.; MARCILIO, N. R.; RECH, R. Absorção de gás carbônico por microalgas em fotobiorreatores. In: Seminário do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 9., 2010, Porto Alegre. **Anais [on line]**. Porto Alegre: UFRGS/PPGEQ, 2010. p. 19-21.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. 3 ed. Campinas: Casa do Pão Editora, 2014. 358 p.

RODRIGUES, T. T. M. **Estudo da pirólise da microalga *Chlorella vulgaris*: Determinação das classes de produtos e dos parâmetros cinéticos**. 2017. 133 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Brasil, 2017.

RUSSO, D. A. M. T. **Estudo do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* numa água residual tratada, sob diferentes condições de fotoperíodo e temperatura**. 2011. 97 f. Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2011.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, 2014.

SAHOO, N. K.; GUPTA, S. K.; RAWAT, I.; ANSARI, F. A.; SINGH, P.; NAIK, S. N.; BUX, F. Sustainable dewatering and drying of self-flocculating microalgae and study of cake properties. **Journal of Cleaner Production**, v. 159, p. 248-256, 2017.

SALIM, S.; GILISSEN, L.; RINZEMA, A.; VERMUE, M. H.; WIJFFELS, R. H. Modeling microalgal flocculation and sedimentation. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 602-607, 2013.

SANTOS, A. M.; SEIXAS, J. M.; PEREIRA, B. B.; MEDRONHO, R. A. Usando redes neurais artificiais e regressão logística na predição da hepatite A. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, p. 117-126, 2005.

SANTOS, S. M. **Caracterização de microorganismos aquáticos por processamento digital de imagens e redes neurais artificiais**. 2001. 155 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – PROMEC, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil, 2001.

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

SHEN, Q.; GONG, Y.; FANG, W.; BI, Z.; CHENG, L.; XU, X.; CHEN, H. Saline wastewater treatment by *Chlorella vulgaris* with simultaneous algal lipid accumulation triggered by nitrate deficiency. **Bioresource Technology**, v. 193, p. 68-75, 2015.

SHOW, K.; LEE, D.; TAY, J.; LEE, T.; CHANG, J. Microalgal drying and cell disruption – Recent advances. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 258-266, 2015.

SILVA, L. A.; RESENDE, O.; VIRGOLINO, Z. Z.; BESSA, J. F. V.; MORAIS, W. A.; VIDAL, V. M. Cinética de secagem e difusividade efetiva em folhas de jenipapo (*Genipa Americana*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 953-963, 2015.

SIVALINGAM, S.; SEN, S. Rapid ultrason assisted hydrothermal synthesis of highly pure nanozeolite X from fly ash for efficient treatment of industrial effluent. **Chemosphere**, v. 210, p. 816-823, 2018.

SLUITER, A.; HAMES, B.; HYMAN, D.; PAYNE, C.; RUIZ, R.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.; TEMPLETON, D.; WOLFE, J. Determination of Total Solids in Biomass and Total Dissolved Solids in Liquid Process Samples. IN: Technical Report NREL/TP-510-42621, National Renewable Energy Laboratory, Colorado, 2008.

SORENSEN, M.; BERGE, G. M.; REITAN, K. I.; RUYTER, B. Microalga *Phaeodactylum tricorutum* in feed for Atlantic salmon (*Salmo solar*) – Effect on nutrient digestibility, growth and utilization of feed. **Aquaculture**, v. 460, p. 116-123, 2016.

SOUSA, C. V. **Microalgas: do tratamento de efluentes para a biorrefinaria**. 2014. 79 f. Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2014.

SOUZA, M. F.; PEREIRA, D. S.; FREITAS, S. P.; BON, E. P. S.; RODRIGUES, M. A. A. Neutral sugars determination in *Chlorella*: Use of a one-step dilute sulfuric acid hydrolysis with reduced sample size followed by HPAEC analysis. **Algal Research**, v. 24, p. 130-137, 2017.

SOUZA, M. F.; RODRIGUES, M. A.; BOM, E. P. S.; FREITAS, S. P. Cultivo e hidrólise enzimática da microalga *Chlorella sorokiniana*. **ENZITEC**, 2016.

SURATGAR, A. A.; TAVAKOLI, M. B.; HOSEINABADI, A. Modified Levenberg-Marquardt method for neural networks training. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 6, p. 636-638, 2007.

TORRES, H. S. J.; CASSINI, S. T. A.; GONÇALVES, R. F. Isolamento, sobrevivência e caracterização da biomassa de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto sanitário visando a produção de biocombustíveis. **IX Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental**, Porto Alegre – RS, 2014.

VIDOTTI, A. D. S. **Análise proteômica, crescimento e composição celular da microalga *Chlorella vulgaris* sob autotrofia, mixotrofia e heterotrofia**. 2015. 191 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil, 2015.

VISWANATHAN, T.; MANI, S.; DAS, K. C.; CHINNASAMY, S.; BHATNAGAR, A.; SINGH, R. K.; SINGH, M. Effect of cell rupturing methods on the drying characteristics and lipid compositions of microalgae. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 131-136, 2012.

WAHIDIN, S.; IDRIS, A.; SHALEH, S. R. M. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 7-11, 2013.

WANG, J.; YIN, Y. Fermentative hydrogen production using pretreated microalgal biomass as feedstock. **Microbial Cell Factories**, v. 17, p. 22-37, 2018.

ZENOOZ, A. M.; ASHTIANI, F. Z.; RANJBAR, R.; NIKBAKHT, F.; BOLOURI, O. Comparison of different artificial neural network (ANN) architectures in modeling of *Chlorella* sp. flocculation. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 47, p. 570-577, 2017.

ZHENG, H.; GAO, Z.; YIN, J.; TANG, X.; JI, X.; HUANG, H. Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ -glutamic acid). **Bioresource Technology**, v. 112, p. 212-220, 2012.

APÊNDICE A - Gráficos das Curvas-Padrão

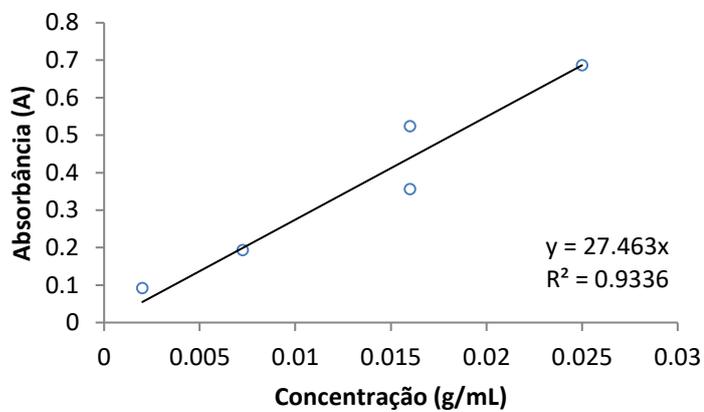


Figura 21 - Curva padrão de peso seco de biomassa de *C. vulgaris*.

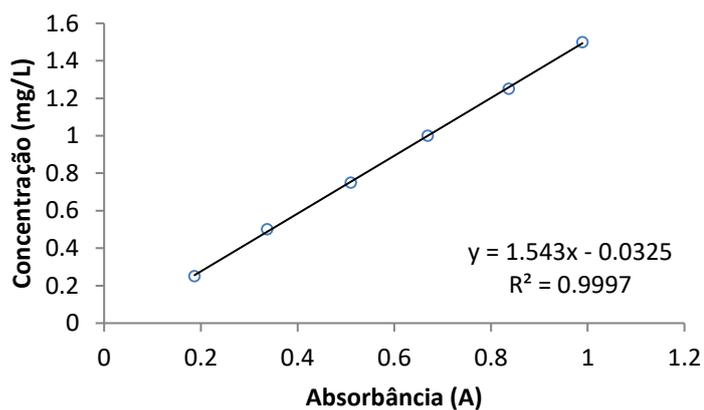


Figura 22 - Curva padrão de determinação de fosfato.

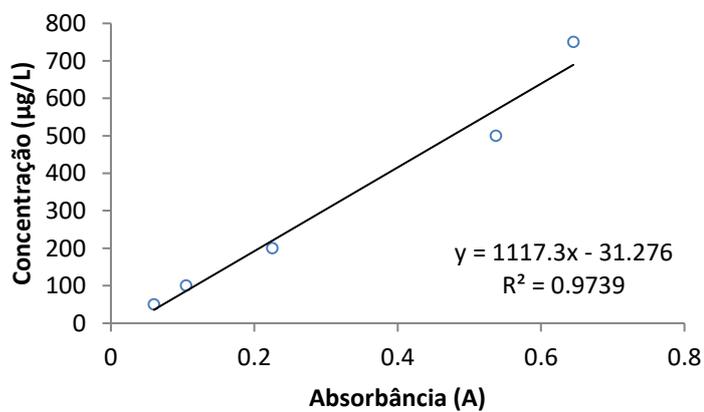


Figura 23 - Curva padrão de determinação de íon amônio.

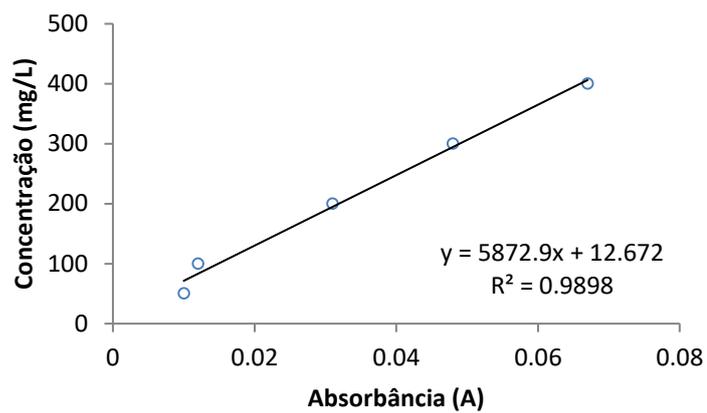


Figura 24 - Curva padrão de determinação da DQO.

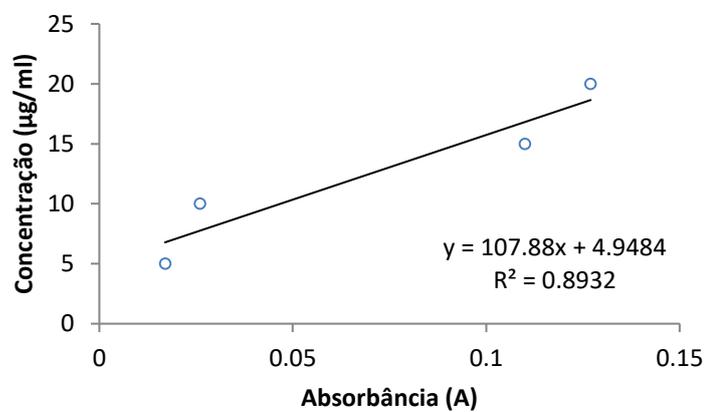


Figura 25 - Curva padrão de determinação de carboidratos.

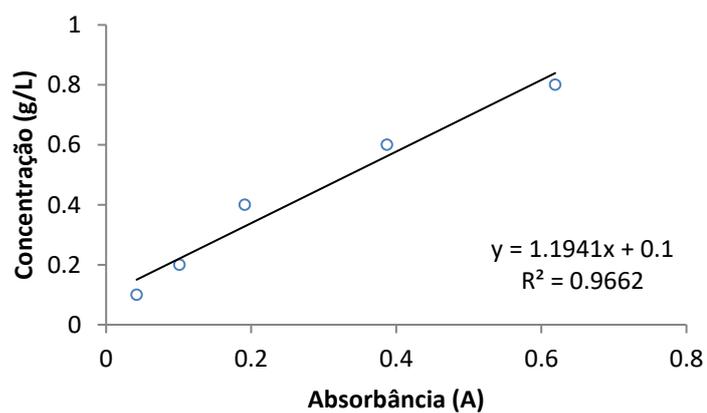


Figura 26 - Curva padrão de determinação de glicose.

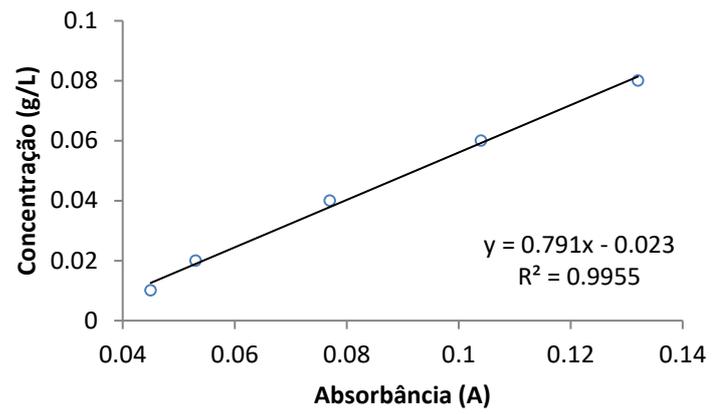


Figura 27 - Curva padrão de determinação de proteínas.

APÊNDICE B - Rede Neural Artificial

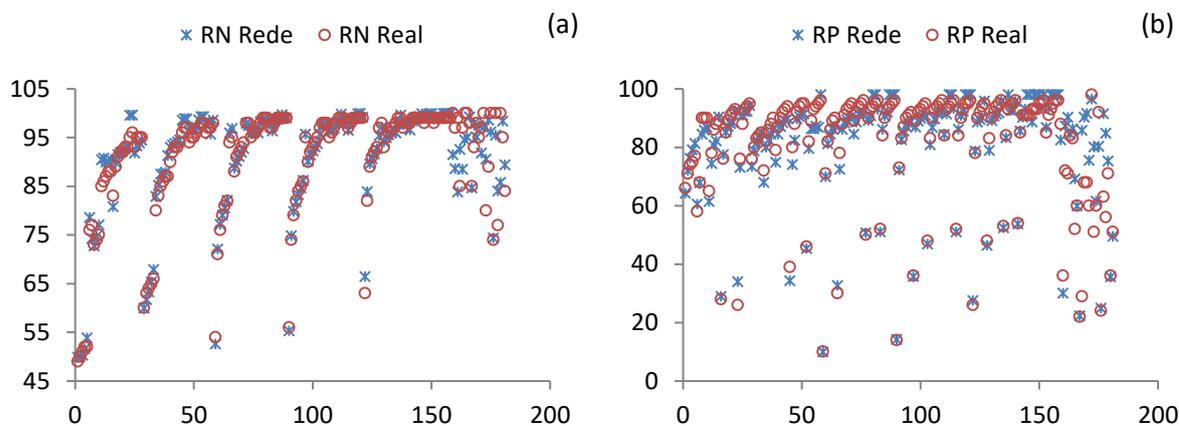


Figura 28 - Comparação entre os dados reais e os dados preditos pela RNA no ensaio de treinamento para (a) íon amônio e (b) fosfato.

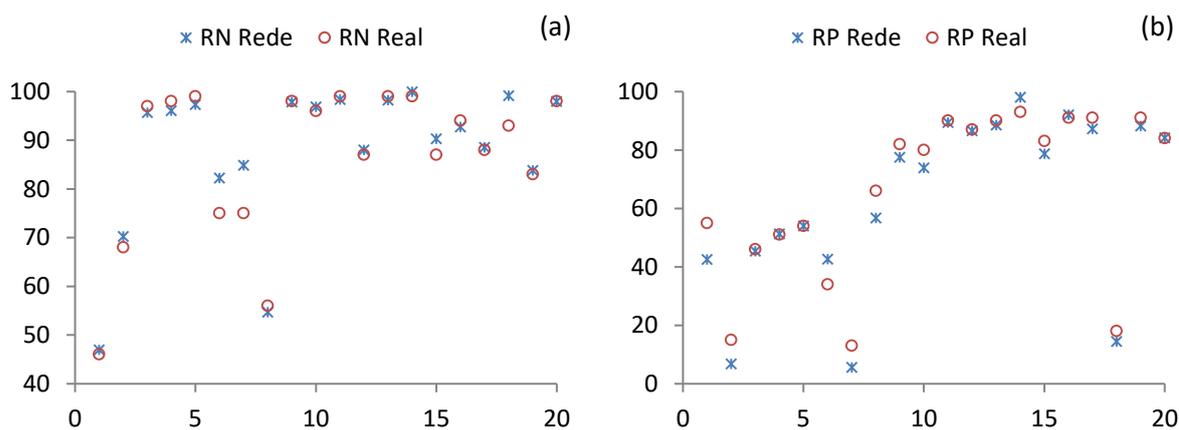


Figura 29 - Comparação entre os dados reais e os dados preditos pela RNA no ensaio de teste para (a) íon amônio e (b) fosfato.

Tabela 8 - Configurações de RNA para o tratamento terciário de efluentes com *C. vulgaris*.

Neurônios	Erro Treinamento	Erro Teste
1	0,02584	0,05027
2	0,01233	0,00793
3	0,01047	0,00504
4	0,00954	0,00745
5	0,00815	0,01043
6	0,00717	0,03137
7	0,00503	0,00399
8	0,00484	0,02488
9	0,00416	0,00943
10	0,00313	0,06153

Tabela 9 - Matriz de pesos, W1: Pesos entre camadas de entrada e ocultas; W2: Pesos entre camadas ocultas e saídas (*Chlorella vulgaris*).

Neurônio	W1					Bias	Neurônio	W2	
	Luz	Variáveis						Variáveis	
		Biomassa	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻			1	RN%	RP%
1	0,640	0,396	-0,437	0,943	1,583		1	-23,697	6,506
2	0,288	0,466	-0,010	0,147	1,028		2	20,918	4,716
3	-0,070	-0,044	0,261	3,848	0,990		3	2,368	4,047
4	-0,798	-6,512	-5,923	4,547	5,423		4	6,186	-10,111
5	0,964	5,984	5,483	-4,194	-5,075		5	5,594	-10,826
6	10,585	13,575	14,040	15,919	-39,149		6	0,622	21,455
7	-48,812	-58,392	-41,793	72,834	60,234		7	-0,604	-0,644
							Bias	4,304	8,213