



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

LUIGGI CAVALCANTI PESSÔA

**BIORREFINARIA DE MICROALGAS E VALORAÇÃO DE
EFLUENTES INDUSTRIAIS: UM MODELO POTENCIAL DE
BIOECONOMIA CIRCULAR PARA O BRASIL**

Salvador

2024

LUIGGI CAVALCANTI PESSÔA

**BIORREFINARIA DE MICROALGAS E VALORAÇÃO DE
EFLUENTES INDUSTRIAIS: UM MODELO POTENCIAL DE
BIOECONOMIA CIRCULAR PARA O BRASIL**

Trabalho submetido ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador: Dr. Denilson de Jesus Assis

Co-orientador: Dr. Luiz Antônio Magalhães Pontes

Salvador

2024

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Bernadete
Sinay Neves, Escola Politécnica - UFBA

P475 Pessoa, Luigi Cavalcanti.

Biorrefinaria de microalgas e valoração de efluentes industriais: um modelo potencial de bioeconomia circular para o Brasil / Luigi Cavalcanti Pessoa. – Salvador, 2024.

232 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Denilson de Jesus Assis.

Coorientador: Dr. Luiz Antônio Magalhães Pontes.

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, 2024.

1. Microalga. 2. Efluentes industriais. 3. Indústria – tecnologia - Brasil. 4. Biorrefinaria. I. Assis, Denilson de Jesus. II. Pontes, Luiz Antônio Magalhães. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDD: 579.82

Este trabalho é dedicado à minha esposa, Joana, e aos nossos tesouros, Clarice e Laura, pela paciência, compreensão e amor. Que as nossas pequenas possam usufruir de um mundo mais sustentável.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



A Comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese “**BIORREFINARIA DE MICROALGAS E VALORAÇÃO DE EFLUENTES INDUSTRIAIS: UM MODELO POTENCIAL DE BIOECONOMIA CIRCULAR PARA O BRASIL.**” de **Luiggi Cavalcanti Pessoa** como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia Química.

Salvador, 20 de agosto de 2024.

Comissão Examinadora:



Documento assinado digitalmente
DENILSON DE JESUS ASSIS
Data: 21/08/2024 11:18:25-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. DENILSON DE JESUS ASSIS

UNIFACS -PPEQ

Presidente (Orientador)



Documento assinado digitalmente
LUIZ ANTONIO MAGALHÃES PONTES
Data: 27/08/2024 22:31:22-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. LUIZ ANTÔNIO MAGALHÃES PONTES

UFBA

(Coorientador)



Documento assinado digitalmente
VALÉRIA DE CARVALHO SANTOS EBINUMA
Data: 21/08/2024 15:42:00-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. VALÉRIA DE CARVALHO SANTOS EBINUMA

UNESP

Examinador Externo à Instituição

Prof. Dr. JOSÉ LUIS GONÇALVES DE ALMEIDA

SENAI CIMATEC

Examinador Externo à Instituição



Documento assinado digitalmente
JOSÉ LUIS GONÇALVES DE ALMEIDA
Data: 22/08/2024 08:51:43-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



Documento assinado digitalmente
JANIA BETANIA ALVES DA SILVA
Data: 22/08/2024 09:29:42 -0300
Verifique em <https://validar.i6.gov.br>

Profa. Dra. JANIA BETANIA ALVES DA SILVA

UFRB-PPEQ

Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
Prof. Dr. LUCAS GUIMARÃES CARDOSO  **LUCAS GUIMARÃES CARDOSO**
Data: 23/08/2024 14:07:11 -0300
Verifique em <https://validar.i6.gov.br>

UNIFACS-PPEQ

Examinador Interno

AGRADECIMENTOS

Conta a máxima que uma longa jornada começa pelo primeiro passo. Pois bem, o primeiro passo consistiu em uma singela visita à Universidade Salvador, no dia 22 de maio de 2019, poucas semanas após o meu retorno do mestrado no Chile. De forma inesperada, reencontrei **Alisson Ruy e Daniel**, amigos da graduação de engenharia química que há anos eu não via. Foram eles que me sugeriram não perder a oportunidade: “O edital do doutorado em engenharia química 2019.2 está aberto, mas corra e se inscreva hoje mesmo, porque já está no prazo final!”. Assim o fiz e agradeço inicialmente a estes dois corações amigos. Obrigado pelo incentivo e parceria! Entretanto, como conseguir entrar no programa se até o presente momento eu não conhecia ninguém além dos dois amigos-alunos? Agradeço àquele que, como o seu nome bem sugere, fez a ‘**ponte**’ para a minha entrada no programa, o **Prof. Luiz Pontes**. Obrigado pela confiança e parceria. Pontes me apresentou aquele que seria o meu primeiro orientador, o Prof. Emerson Sales. Como nada acontece por acaso, agradeço ao **Prof. Emerson Sales** por ser o responsável por me apresentar às microalgas e à relevância delas para a construção de um mundo mais sustentável. Pelos vaivéns da vida, o professor Emerson se aposentou e vivíamos, naquela época, um momento delicado de contingenciamento de recursos na educação, no qual eu estaria condicionado a realizar os estudos de doutorado sem bolsa. Mais uma vez, **Pontes** entra em ação. Após receber uma ligação da **Professora Janice** que lhe perguntara “Luiggi, da lista de aprovados no PPEQ, tem bolsa e orientador?”, ele me liga entusiasmado, informando que havia uma imperdível bolsa CNPq do projeto EQUINOR para a formação de mestres e doutores em energia renovável. Era pegar ou largar. Assim, incrédulo com tantas reviravoltas da vida em pouco tempo, vou na tarde seguinte até o famoso laboratório LAPESCA para conversar com aquele que se tornaria, depois, mais do que um orientador, mas um grande amigo e fidedigno interlocutor, o **Prof. Denilson Assis**. Um obrigado especial a você pelos aprendizados, pela confiança, pela paciência com as mensagens à noite e aos finais de semana, pelas resenhas e pelos inúmeros e edificantes cafés juntos. Ainda não encontrei uma aula tão rica e didática quanto a sua, indo desde a verificação química de whisky adulterado utilizando amido-iodo até a monarquia brasileira, passando por biopolímeros e a relevância da prospecção tecnológica nos cursos de pós-graduação. Tenho muito orgulho de ser o seu primeiro aluno de doutorado!

Feito este preâmbulo e com o cuidado para não tornar este agradecimento maior do que o conteúdo desta tese, prometo que serei doravante mais breve. Gostaria de agradecer

imensamente à **Professora Janice**, *in memoriam*. Mesmo com apenas dois anos de convivência, pude aprender muito com ela e admiro, e seguirei admirando, o seu legado. Eu não conseguiria realizar esta tese sem o seu esforço para montar uma invejável infraestrutura de pesquisa. E, claro, acredito que nunca encontrarei uma caponata tão maravilhosa quanto aquela que ela fazia. Em seguida, agradeço aos amigos do Lapesca pelo espaço, pela parceria, pela oportunidade de aprendizado e pelas manhãs, tardes e noites agradáveis. Obrigado a todos por cada cafezinho e pelas trocas científicas e pessoais. Agradeço aos amigos do ‘quarteto fantástico’, **Larissa, Mateus e Diego**, com quem passávamos as tardes da pandemia, usando máscaras e realizando exercícios intermináveis de fenômenos de transporte, cinética de reatores e termodinâmica. Obrigado pela amizade de vocês.

Uma outra pessoa que marcou profundamente o meu doutorado, embora não tenha tido a oportunidade e felicidade de conhecê-la pessoalmente, foi a **Prof. Roberta Brayner**, *in memoriam*. Entusiasta do casamento entre as microalgas e a nanotecnologia, ela abriu as portas e os braços para me receber em seu laboratório ITODYS, em solos parisienses. Mas, como disse o poeta, “há mistérios peregrinos no mistério dos destinos”, e a nossa rota precisou ser, infelizmente, desviada. Ainda assim, a professora, que era uma brasileira ‘arretada’ na ciência francesa, plantou boas sementes científicas em nossos corações.

Agradeço à UFBA pela educação gratuita e de qualidade e ao CNPq e à CAPES pelo fomento do doutorado, principalmente pela experiência do sanduíche na Espanha. Em Almería, terra ensolarada em que a pesquisa de microalgas prospera há mais de duas décadas, aprendi muito e agradeço imensamente o acolhimento do professor Francisco Gabriel Ación Fernández no IFAPA. O professor Gabriel me mostrou de forma indelével que a intelectualidade pode e deve andar de mãos dadas com a humildade. Obrigado aos amigos do IFAPA, de todas as nacionalidades em que encontramos, e aos demais espanhóis que nos receberam muito bem, fazendo-nos sentir que estávamos praticamente *en nuestra casa*. Agradeço ao pesquisador brasileiro Daniel Kurpan, que, em sua rápida passagem por Almería, acabei conhecendo por acaso, sendo agora um amigo e interlocutor do mundo das microalgas. A sua feijoada me fez matar a saudade do nosso Brasil.

Finalmente, mas não menos importante, agradeço à minha família amorosa que é o meu alicerce cotidiano. A compreensão e abnegação de vocês foi essencial durante os finais de semana e feriados sacrificados para a conclusão deste trabalho. Obrigado, de coração, pela caminhada evolutiva e aprendizado diário.

“Quatro questões desafiam o futuro da humanidade: meio ambiente e pobreza, demografia e desigualdade. Só a cooperação entre os países poderá resolvê-las.”

Jeffrey Sachs

RESUMO

Nos últimos anos, a demanda humana por recursos naturais tem superado a capacidade regenerativa do planeta, exigindo uma mudança no modelo econômico linear de "extrair, produzir, descartar". Nesse contexto, a biorrefinaria de microalgas associada ao tratamento de efluentes (BBMTE) emerge como um modelo promissor de bioeconomia circular, alinhando-se às principais agendas globais de sustentabilidade e com grande potencial para integrar o recente programa de neointustrialização no Brasil. Embora as microalgas tenham se destacado nos últimos anos como uma solução tecnológica para o tratamento de efluentes industriais, ainda há uma carência de estudos focados no aproveitamento simultâneo dos bioprodutos sintetizados intra e extracelularmente. Este estudo visa oferecer uma perspectiva integral e inovadora sobre a biomassa, os produtos de alto valor agregado extracelular e os benefícios ambientais da BBMTE em relação à água produzida (AP), à manipueira (MP) e ao soro de leite (SL). Para alcançar esse objetivo, a tese está estruturada em cinco pilares metodológicos: (i) prospecção tecnológica e mercadológica mundial neste campo de pesquisa; (ii) caracterização dos efluentes e aclimação da *Chlorella vulgaris* aos mesmos; (iii) estudo da influência do pré-tratamento e suplementação da AP nos bioprodutos microalgais intra e extracelulares; (iv) otimização dos cultivos de microalgas para a produção individual e simultânea de biomassa e substâncias poliméricas extracelulares (EPS); (v) cultivos em escala piloto contendo SL e análise do consórcio microalgas-bactérias na produção de EPS e no potencial reológico destes biopolímeros. O panorama mercadológico global, apoiado na curva S tecnológica, mostra que a BBMET é uma área em ascensão desde 2011. A partir da análise do estado da arte, identificou-se cinco barreiras para o cultivo de microalgas em AP, mas que foram atenuadas com algum tipo de pré-tratamento e/ou suplementação. Do ponto de vista cinético, o pré-tratamento com carvão ativado (CA) apenas funcionou quando acompanhado da suplementação de MP, resultando em uma produtividade máxima de biomassa. Além disso, os biodiesel produzidos se enquadraram nas normas nacionais e internacionais. A avaliação morfológica do meio extracelular revelou a presença de micropartículas queladas em uma matriz polimérica, formando um biocompósito (EPS-micropartículas) com potencial aplicação de aditivo viscosificante para a indústria do petróleo. O pré-tratamento com CA promoveu, junto com a suplementação, uma maior síntese desses biocompósitos com melhores propriedades reológicas, alcançando uma produção de 1,16 g L⁻¹ e uma distribuição média de tamanho de 0,7 µm. A análise de desejabilidade global indicou que a combinação de 10% de MP, 38% de AP e 170 rpm de agitação maximizou simultaneamente as produções de EPS e biomassa, com

previsões de 1,89 e 1,45 g L⁻¹, respectivamente, alcançando uma desejabilidade de 89%. Notavelmente, a mistura de efluentes (AP e MP) propiciou os maiores valores de EPS reportados na literatura para *Chlorella vulgaris*, demonstrando-se como uma estratégia inovadora para a maximização deste biopolímero. A espectroscopia com transformada de Fourier (FTIR), a técnica de ressonância magnética (RMN) de difusão e o estudo reológico revelaram que os biopolímeros sintetizados na escala piloto com o SL apresentaram características químicas e reológicas comparáveis à goma xantana comercial, com tamanhos moleculares entre 284 e 324 kDa. A presença de um consórcio microalgas-bactérias resultou em maior produção de EPS e melhores propriedades reológicas em relação ao controle, representando um avanço significativo no campo de valorização de resíduos por microalgas. Por fim, este estudo demonstra que a BBMTE contribui para a sustentabilidade ambiental e oferece uma abordagem técnica viável para a produção de bioprodutos de alto valor agregado, reutilizáveis nas próprias indústrias fornecedoras de efluentes ou em outros segmentos de mercado, dentro de uma perspectiva circular. O Brasil, com sua intrínseca vocação para biorrefinarias, pode incorporar a BBMTE como uma tecnologia dentro da proposta da Nova Indústria Brasil, aproveitando-se do contexto geopolítico demandante de novas soluções verdes. Essa tecnologia transforma a gestão de efluentes industriais, convertendo resíduos em recursos valiosos, aderindo-se à nova agenda de sustentabilidade global.

Palavras-chave: biorrefinaria; microalgas; efluentes; bioprodutos; tecnologias; nova indústria Brasil.

ABSTRACT

In recent years, human demand for natural resources has exceeded the planet's regenerative capacity, necessitating a shift from the linear economic model of "extract, produce, discard." In this context, the microalgae biorefinery associated with wastewater treatment (MBWT) emerges as a promising model of circular bioeconomy, aligning with major global sustainability agendas and holding significant potential to integrate into Brazil's recent neo-industrialization program. Although microalgae have gained prominence in recent years as a technological solution for industrial wastewater treatment, there remains a lack of studies focused on the simultaneous utilization of intra- and extracellularly synthesized bioproducts. This study aims to provide a comprehensive and innovative perspective on biomass, high-value extracellular products, and the environmental benefits of MBWT concerning produced water (PW), cassava wastewater (CW), and whey (W). To achieve this objective, the thesis is structured into five methodological pillars: (i) global technological and market prospecting in this research field; (ii) characterization of effluents and acclimatization of *Chlorella vulgaris* to them; (iii) study of the influence of pre-treatment and supplementation of PW on intra- and extracellular microalgal bioproducts; (iv) optimization of microalgae cultures for the individual and simultaneous production of biomass and extracellular polymeric substances (EPS); (v) pilot-scale cultures containing W and analysis of the microalgae-bacteria consortium in EPS production and the rheological potential of these biopolymers. The global market panorama, supported by the technological S-curve, shows that MBWT has been an emerging area since 2011. From the state-of-the-art analysis, five barriers to microalgae cultivation in PW were identified, which were mitigated with some form of pre-treatment and/or supplementation. From a kinetic perspective, pre-treatment with activated carbon (AC) only worked when accompanied by CW supplementation, resulting in maximum biomass productivity. Additionally, the produced biodiesels met national and international standards. Morphological evaluation of the extracellular medium revealed the presence of chelated microparticles in a polymeric matrix, forming a biocomposite (EPS-microparticles) with potential application as a viscosifying additive for the petroleum industry. AC pre-treatment, along with supplementation, promoted greater synthesis of these biocomposites with better rheological properties, achieving a production of 1.16 g L^{-1} and an average size distribution of $0.7 \text{ }\mu\text{m}$. Global desirability analysis indicated that the combination of 10% CW, 38% PW, and 170 rpm agitation simultaneously maximized EPS and biomass productions, with predictions of 1.89 and 1.45 g L^{-1} , respectively, achieving a desirability of 89%. Notably, the effluent mixture (PW

and CW) provided the highest EPS values reported in the literature for *Chlorella vulgaris*, demonstrating itself as an innovative strategy for maximizing this biopolymer. Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), diffusion nuclear magnetic resonance (NMR) technique, and rheological study revealed that the biopolymers synthesized at pilot scale with W exhibited chemical and rheological characteristics comparable to commercial xanthan gum, with molecular sizes between 284 and 324 kDa. The presence of a microalgae-bacteria consortium resulted in higher EPS production and better rheological properties compared to the control, representing a significant advancement in the field of waste valorization by microalgae. Finally, this study demonstrates that MBWT contributes to environmental sustainability and offers a viable technical approach for producing high-value bioproducts, reusable in the effluent-supplying industries or other market segments, within a circular perspective. Brazil, with its intrinsic vocation for biorefineries, can incorporate MBWT as a technology within the proposal of the New Industry Brazil, taking advantage of the geopolitical context demanding new green solutions. This technology transforms industrial wastewater management, converting waste into valuable resources, and adhering to the latest global sustainability agenda.

Keywords: biorefinery; microalgae; effluents; bioproducts; technology; new industry Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A biorrefinaria à base de microalgas adere à agenda sustentável mundial e pode ser mais uma estratégia promissora para mitigar parte dos desafios globais	27
Figura 2 – Classificação ecológica das microalgas	32
Figura 3 – Imagem microscópica da <i>Chlorella vulgaris</i>	34
Figura 4 – Organelas presentes na <i>Chlorella vulgaris</i>	35
Figura 5 – Rotas para o aproveitamento biotecnológico da biomassa de microalgas	37
Figura 6 – Comparação anual entre a produção de água e óleo em um poço	40
Figura 7 – Comparação anual entre a produção de água e óleo em um poço	41
Figura 8 – Equacionamento da tecnologia de biorremediação	42
Figura 9 – Relação entre a economia circular e os aspectos do nexos água, alimentos e energia	45
Figura 10 – 1ª missão do plano de retomada da indústria brasileira e a sua possível aderência às BBMs	48
Figura 11 – Evolução temporal (2012-2021) das publicações envolvendo AP e microalgas ..	50
Figura 12 – As palavras-chave mais utilizadas e suas associações foram criadas no software VOSviewer, com base no critério mínimo de três repetições por palavra. Combinou-se as palavras “microalgae”, o operador “and” e “produced water”	51
Figura 13 – As principais barreiras identificadas para o crescimento das algas em AP	53
Figura 14 – Perfil do aproveitamento biotecnológico da biomassa resultante das microalgas em AP	70
Figura 15 – Comparação média de fósforo total e nitrogênio total entre os efluentes manipueira, vinhaça e os meios sintéticos (f/2, Zarrouk e BG11).....	77
Figura 16 – Sistematização dos desafios e lacunas tecnológicas envolvendo microalgas em AP e SL em cinco categorias. Na região inferior da figura, os símbolos AP e SL referem-se àquelas categorias em que as lacunas foram encontradas para esses efluentes.....	80
Figura 17 – Estruturação da biorrefinaria e valorização dos efluentes pelas microalgas realizadas neste trabalho em cinco blocos diferentes	81
Figura 18 – Primeira parte: análise bibliométrica dos dados estruturados.....	82
Figura 19 – Segunda parte: mineração de dados não estruturados	83
Figura 20 – Etapas de caracterização da manipueira.....	85

Figura 21 – Desenho de experimentos testando pré-tratamento e suplementação. Duplicatas foram realizadas para cada ponto	88
Figura 22 – Separação e destinação da biomassa e do EPS	89
Figura 23 – Quinto bloco de experimentos realizados na Universidade de Almería em escala piloto	96
Figura 24 – Reatores de colunas de bolhas com controle automático para a produção de <i>Chlorella vulgaris</i> e a centrífuga semi-industrial	97
Figura 25 – Evolução temporal do depósito de patentes entre de 20 anos (1998-2018).....	104
Figura 26 – Modelagem matemática dos dados cumulativos de patentes.....	106
Figura 27 – Curva S típica do ciclo de vida de tecnologias	107
Figura 28 – Panorama dos domínios tecnológicos	108
Figura 29 – Países vanguardistas no depósito de tecnologias	109
Figura 30 – Composição das instituições	110
Figura 31 – Perfil das principais instituições depositantes.....	112
Figura 32 – Percentual de distribuição dos segmentos de efluentes entre as categorias esgoto e industrial	115
Figura 33 – Distribuição das tecnologias por propósito.....	117
Figura 34 – Divisão dos biocombustíveis de terceira geração presentes nas patentes prospectadas.....	118
Figura 35 – Esquemático da tecnologia de 5 passos	120
Figura 36 – Cinco benefícios da tecnologia predominante para produção de biocombustíveis de terceira geração.....	120
Figura 37 – Aglomerado de palavras-chave que mais se repetiram no portfólio de patentes	122
Figura 38 – Aparato utilizado para o pré-tratamento realizado na água produzida com o CA (a), (b) água produzida bruta à esquerda e à direita a água tratada	125
Figura 39 – Curvas de crescimento da microalga <i>C. vulgaris</i> cultivada com 10% de AP esterilizada e bruta (não esterilizada) durante 14 dias	129
Figura 40 – Microscopia de <i>C. vulgaris</i> cultivada com 10% de AP (a) esterilizada, (b) não esterilizada	130
Figura 41 – Curvas de crescimento para a <i>Chlorella vulgaris</i> , onde (a) APSTSS: água produzida sem tratamento e sem suplementação; (b) APCTSS: água produzida com tratamento e sem suplementação; (c) APSTCS: água produzida sem tratamento e com suplementação; (d) APCTCS: água produzida com tratamento e com suplementação.....	133

Figura 42 – Perfil de decomposição térmica das amostras, TGA à esquerda; à direita, curvas de derivada DTG	144
Figura 43 – Resultados gravimétricos dos EPS em função do tratamento realizado	146
Figura 44 – Comparação entre as curvas de escoamento dos fluídos não-newtonianos (EPS) e a GXS, aplicando o modelo de “ <i>power-law</i> ” ou Ostwald-de Waele.....	148
Figura 45 – Comparação entre a viscosidade aparente entre os EPS de microalgas e a Goma Xantana comercial para diferentes taxas de cisalhamento	151
Figura 46 – Comparação entre a viscosidade aparente dos biopolímeros para diferentes temperaturas (25, 45,65 e 85°C)	152
Figura 47 – Espectro do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com ATR para a comparação dos tratamentos APSTSS e APCTCS.....	153
Figura 48 – Sobrenadantes dos pontos suplementados (APSTCS e APCTCS)	155
Figura 49 – DLS da água bruta (b) e dos sobrenadantes dos tratamentos.....	155
Figura 50 – Microscopia de varredura eletrônica dos sobrenadantes (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS.....	157
Figura 51 –Histogramas para as micrografias (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS	158
Figura 52 – Micrografias após a remoção dos EPS (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS	159
Figura 53 – Curva de nível (a) e superfície de resposta (b) para a concentração de biomassa	165
Figura 54 – Curva de nível (a) e superfície de resposta (b) para a concentração de EPS	168
Figura 55 – Desejabilidade global para otimização simultânea da biomassa e dos EPS	170
Figura 56 – (a) Resultado da concentração de EPS extraído da coluna de soro de leite (CS) e controle de coluna (CC); (b) Concentrações de bactérias heterotróficas antes e após o processo de centrifugação semi-industrial.....	171
Figura 57 – Curvas de fluxo (a) e viscosidades aparentes (b) de soluções de EPS oriundo do soro de leite e controle a 0,8%.....	174
Figura 58 – (a) Viscosidades aparentes com seus respectivos ajustes pelo modelo Cross para o CS-EPS de 0,4 a 1%; (b) comparação entre os modelos Power Law e Cross a 1%	175
Figura 59 – Propriedades reológicas de soluções de 0,4% de GXC e 1% de EPS. (a) Comparação de GXG para taxa de cisalhamento em intervalos de (i.e., 2,64 a 39,6 s ⁻¹) versus (i.e., 14,7 a 220 s ⁻¹) para EPS-CS (coluna soro). (b) Comparação baseada na	

extrapolação para intervalos semelhantes de acordo com a equação derivada da Lei da Potência.....	177
Figura 60 – Espectros FTIR de EPS-CS (linha azul); EPS-CC (linha vermelha) e GXC (linha preta).....	179
Figura 61 – Análise de RMN do EPS-CW: a) Espectro de ¹ H RMN a 600 MHz (D ₂ O) incluindo as atribuições de pequenas moléculas como 1 (formiato), 2 (adenosina), 3 (guanosina), 4 (uridina), 5 (fenilalanina), 6 (tirosina), 7 (valina), 8 (isoleucina), 9 (leucina), a (prótons anoméricos), b (prótons de pentoses e hexoses) e c (prótons metílicos); b) Espectro de ¹³ C RMN a 150,9 MHz (D ₂ O) incluindo o pico principal dos sinais.....	181
Figura 62 – ¹ H DOSY (500 MHz, espectroscopia ordenada por difusão) e b) ¹ H MOSY (espectroscopia ordenada por massa molecular) para uma amostra de EPS medida a 500 MHz em D ₂ O a 294 K.....	183
Figura 63 – (a) Projeção F1 do mapa DOSY e (b) sua conversão para massa molecular média ponderada.....	184
Figura 64 – Modelo de biorrefinaria de <i>Chlorella vulgaris</i> em efluentes industriais e as suas potencialidades encontradas nesta tese.....	186

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação da <i>Spirulina platensis</i> e da <i>Chlorella vulgaris</i>	33
Quadro 2 – Compilação das revisões de microalgas em AP	52
Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas	54
Quadro 4 – Compilação e análise dos tipos de pré-tratamentos realizados na água produzida presentes na literatura	66
Quadro 5 – Escala de produção, principais gêneros e variáveis de processo para o cultivo de microalgas em AP.....	72
Quadro 6 – Tabela de escopo	103
Quadro 7 – Principais características das instituições vanguardistas	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição bioquímica de algumas espécies de microalgas em (%) em comparação aos alimentos	36
Tabela 2 – Matriz experimental (codificados e reais)	95
Tabela 3 – Ajuste do número acumulado documentos a modelos de crescimento sigmoide.	105
Tabela 4 – Segmentação dos efluentes	114
Tabela 5 – Composição química da água produzida	124
Tabela 6 – Antes e depois do pré-tratamento da AP com carvão ativado	126
Tabela 7 – Caracterização da manipueira.....	127
Tabela 8 – Comparação dos meios padrões para cultivo de microalgas com a manipueira...	128
Tabela 9 – Parâmetros cinéticos dos testes realizados com a microalga <i>Chlorella</i> cultivada com 10% de água produzida (AP) da extração de petróleo esterilizada e não esterilizada	130
Tabela 10 - Parâmetros cinéticos do crescimento de <i>C. vulgaris</i> cultivada com 15% de água produzida (AP) e 5% de manipueira.....	131
Tabela 11 - Composição de ácidos graxos (%) em biomassa por <i>C. vulgaris</i> em comparação ao estudo controle com BG-11, realizado por Silva <i>et al.</i> (2022)	135
Tabela 12 – Propriedades do biodiesel produzido para os diferentes tratamentos.....	140
Tabela 13 – Aplicação do Test-t para determinar o tratamento mais promissor para a produção de EP.....	147
Tabela 14 – Ajuste do modelo de potência para cada tratamento	149
Tabela 15 – Parâmetros reológicos em função dos tratamentos realizados e a sua comparação com o biopolímero comercial	150
Tabela 16 – Análise comparativa da estabilidade térmica entre as amostras.....	153
Tabela 17 – Caracterização das nanopartículas	156
Tabela 18 – Determinação da composição centesimal elementar para cada tratamento.....	160
Tabela 19 – Resultados da matriz de Doehlert para a produção de EPS e Biomassa por <i>C. vulgaris</i> em função das variáveis independentes concentração de manipueira, água produzida e agitação. PC refere-se ao ponto central que foi repetido três vezes.	162
Tabela 20 – Coeficientes da regressão múltipla para a produção de biomassa.....	163
Tabela 21 – Análise de variância (ANOVA) para avaliação estatística do modelo de produção de biomassa por <i>C. vulgaris</i>	164
Tabela 22 – Coeficientes da regressão múltipla para a produção dos EPS	166

Tabela 23 – Análise de variância (ANOVA) para avaliação estatística do modelo de produção de EPS por <i>C. vulgaris</i>	167
Tabela 24 – Propriedades reológicas de soluções dos EPS advindos da coluna-soro (CS) em comparação com as do EPS advindos da coluna-controle (CC) (0,8% m/v, 25°C, 25s-1).....	173
Tabela 25 – Parâmetros do modelo de Power Law obtidos a partir do ajuste das soluções de EPS da coluna-controle e da coluna-soro. K (Pa.sn) n é um número adimensional, e C é a concentração de EPS (% m/v)	174
Tabela 26 – Parâmetros do modelo Cross para a solução de 1% de EPS-CS, e erro RMSE entre os valores preditos e medidos para o ajuste do modelo Cross e Power Law.....	176
Tabela 27 – Coeficientes de difusão TRAI _n (D), raio hidrodinâmico (rH) e peso molecular médio ponderal (M _w), a 295 K em D ₂ O.....	182

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALS	Life Science Brasil
AP	Água produzida
APCT	Água produzida com tratamento.
APST	Água produzida sem tratamento
BBMs	Biorrefinaria à base de microalgas
BBMTE	Biorrefinaria à base de microalgas associada ao tratamento de efluentes
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
C	Carbono
CG	Cromatografia gasosa
CNI	Confederação Nacional da Indústria
COP	Conferência das Partes
CXG	Goma xantana comercial
DTG	Derivada termogravimétrica
EISA	Energy Independence and Security Act
EPA	Environmental Protection Agency
EPO	Escritório Europeu de Patentes
EPS	Exopolissacarídeos
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares
FSCL	Fator de saturação de cadeia longa
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
GI	Grau de insaturação
HAPs	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
HAPS	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
HPA	Hidrocarbonetos policíclico aromático
HTP	Hidrocarbonetos totais de petróleo
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IEA	Agência Internacional de Energia
LAMUME	Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica
N	Nitrogênio
MP	Manipueira
NC	Número de cetanos
NIB	Nova Indústria Brasil

NPMs	Nanopartículas metálicas
P	Fósforo
PCS	Densidade e poder calorífico superior
PDI	Índice de polidispersidade
PDI	Partícula e Índice de Polidispersidade
PECL	Ponto de entupimento do filtro a frio
PHAs	Polihidroxicanoatos).
PRO-ALCOOL	Programa Nacional do Álcool
SÃO	Sujeito-ação-objeto
SL	Soro do leite
SST	Sólidos suspensos totais
TDS	Total de sólidos dissolvidos
TMS	Tetrametilsilano
VC	Viscosidade cinemática
VI	Valor de iodo
VS	Valor de saponificação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	26
1.1	OBJETIVOS	30
1.1.1	Objetivo geral.....	30
1.1.2	Objetivos específicos.....	31
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	32
2.1	MICROALGAS.....	32
2.1.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	34
2.1.2	Aplicações industriais e biotecnológicas envolvendo as microalgas.....	37
2.2	ÁGUA PRODUZIDA.....	39
2.3	BIORREMEDIAÇÃO E FICORREMEDIAÇÃO	42
2.4	PARADIGMAS DO SÉCULO XXI, BIORREFINARIA E VOCAÇÃO DO BRASIL	44
2.5	PLANO DE RETOMADA DA INDÚSTRIA E NOVA INDÚSTRIA BRASIL.	47
2.6	PANORAMA DOS ESTUDOS ENVOLVENDO AS MICROALGAS EM ÁGUA PRODUZIDA NA LITERATURA	50
2.6.1	Barreiras da água produzida para o cultivo de microalgas.....	53
2.6.2	Suplementação da água produzida	63
2.6.3	Pré-tratamentos da AP para o cultivo de microalgas.....	64
2.6.4	Bioprodutos, microalgas e escala de produção	69
2.7	SUBSTITUIÇÃO DOS MEIOS SINTÉTICOS POR EFLUENTES NO CULTIVO DE MICROALGAS EM LARGA ESCALA	73
2.7.1	Soro do Leite	75
2.7.2	Manipueira	76
2.7.3	Sistematização da literatura e lacunas tecnológicas	78
3	MATERIAIS E MÉTODOS	81
3.1	PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA	81
3.2	CARACTERIZAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DE EFLUENTES	84
3.2.1	Água produzida.....	84
3.2.2	Manipueira	85
3.2.3	Preparação do inóculo, aclimação da <i>Chlorella vulgaris</i> e teste preliminar	86
3.3	INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO NO CRESCIMENTO MICROALGAL E NA SÍNTESE DE BIOPRODUTOS.....	87

3.3.1	Pré-tratamento da AP com carvão ativado.....	87
3.3.2	Diagramação dos experimentos.....	87
3.3.3	Cinética de crescimento microalgal	89
3.3.4	Extração de bioprodutos	89
3.3.5	Composição da biomassa celular.....	90
3.3.6	Parâmetros da qualidade do biodiesel.....	91
3.3.7	Extração dos EPS e propriedades reológicas.....	91
3.3.8	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	92
3.3.9	Determinação do Tamanho de Partícula e Índice de Polidispersidade (PDI), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)	93
3.3.10	Análise termogravimétrica da biomassa	93
3.4	OTIMIZAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS	94
3.4.1	Planejamento experimental	94
3.4.2	Cinética de crescimento microalgal e extração de EPS.....	95
3.5	CULTIVOS EM ESCALA PILOTO EM COLUNAS DO TIPO BOLHA	96
3.5.1	Preparação do inóculo e escalonamento	96
3.5.2	Métodos analíticos - Detecção e quantificação de bactérias	97
3.5.3	Extração, quantificação e caracterização reológica do EPS.....	98
3.5.4	Ajuste de dados aos modelos e análise estatística	98
3.5.5	Caracterização química dos EPS	99
3.5.6	Predição da massa molecular por Difusão via RMN.....	100
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	103
4.1	ANÁLISE GLOBAL DE LACUNAS E TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS DO MERCADO DE BIORREFINARIA À BASE DE MICROALGAS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS.....	103
4.1.1	Recuperação de dados mundiais e evolução temporal.....	103
4.1.2	Modelagem do ciclo de vida tecnológico.....	105
4.1.3	Principais domínios tecnológicos.....	107
4.1.4	Cobertura geográfica.....	108
4.1.5	Perfil das instituições e principais candidatos	110
4.1.6	Análise dos efluentes.....	114
4.1.7	Perfil de aplicações de tecnologia	116

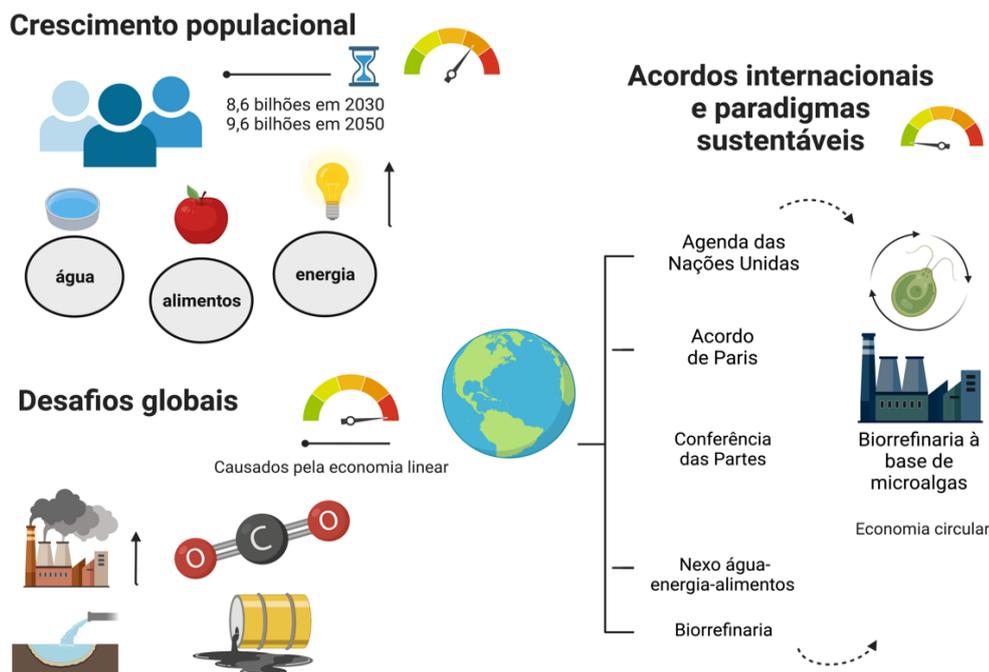
4.1.8	Tecnologia dominante para fins de biocombustíveis.....	119
4.1.9	Agrupamento de palavras-chave e microalgas empregadas.....	121
4.1.10	Perspectivas e desafios tecnológicos futuros.....	122
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS EFLUENTES, PRÉ-TRATAMENTO E CULTIVOS PRELIMINARES	123
4.2.1	Composição química da água produzida.....	123
4.2.2	Pré-tratamento da água produzida.....	125
4.2.3	Caracterização da Manipueira.....	126
4.2.4	Cultivos preliminares	128
4.3	INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO NO CRESCIMENTO MICROALGAL E NA SÍNTESE DE BIOPRODUTOS.....	131
4.3.1	Quantificação de lipídios e Perfil dos ácidos graxos.....	134
4.3.2	Análise de TG da biomassa.....	143
4.3.3	Produção e caracterização das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em função dos tratamentos realizados.....	145
4.3.4	Estudo prospectivo das nanopartículas	154
4.4	MATRIZ DE DOEHLERT PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS E OTIMIZAÇÃO.....	162
4.5	CULTIVO EM ESCALA PILOTO COM SORO DE LEITE E CONSÓRCIO MICROALGAS-BACTÉRIAS	170
4.5.1	Propriedades Reológicas das Soluções de EPS	173
4.5.2	Caracterização Estrutural dos EPS Produzidos.....	179
4.5.3	Biorrefinaria e benefícios ambientais	185
5	CONCLUSÃO.....	188
	REFEFÊNCIAS	190
	APÊNDICE A – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CC não liofilizada (vermelho) e CXG não liofilizada (67,3% de ajuste, azul).....	221
	APÊNDICE B – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CC liofilizada (vermelho) e CXG liofilizada (65,8% de ajuste, azul).....	222
	APÊNDICE C – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CS não liofilizada (vermelho) e CXG não liofilizada (74,7% de ajuste, roxo).....	223
	APÊNDICE D – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CS liofilizada (vermelho) e CXG liofilizada (82,7% de ajuste, azul).....	224

1 INTRODUÇÃO

O consumo sustentável dos recursos naturais e a mitigação da poluição ambiental e das mudanças climáticas tornaram-se desafios globais. Estima-se que a população mundial atinja 8,6 bilhões em 2030 e 9,8 bilhões em 2050, o que resultará em um aumento de 50, 80 e 60% na demanda por energia, água e alimentos, respectivamente, até o último ano mencionado (United Nations, 2017; FAO, 2018). O problema ecológico emerge como uma falha no metabolismo socioeconômico, caracterizado, por um lado, pela disponibilidade finita de matérias-primas e energia e, por outro, pela capacidade limitada do planeta de processar os resíduos gerados (Cechin, 2010). Para atender sustentavelmente às demandas desse crescimento, urge promover uma mudança de paradigma produtivo. O ideário da economia linear, baseado em "extrair, produzir e descartar", deve transitar para uma economia circular. Nesse novo modelo, efluentes e resíduos, anteriormente considerados sem valor e vistos como passivos ambientais, passam a ser insumos e ativos essenciais para a geração de valor na forma de novos produtos, processos e serviços. Estima-se que a economia circular pode contribuir para a redução de até 45% das emissões globais de gases de efeito estufa, sendo uma abordagem necessariamente complementar à transição energética mundialmente em curso (Ellen Macarthur Foundation, 2019).

Nesse contexto, as nações discutem estratégias e estabelecem metas para promover a sustentabilidade dos recursos para as gerações futuras por meio de uma série de reuniões e acordos multilaterais, a saber: Conferência das Partes (COP), o Acordo de Paris e Agenda 2030 das Nações Unidas. Entre as recomendações propostas pelas Nações Unidas, destaca-se o consumo e produção responsáveis de recursos naturais, consubstanciados numa cartilha intitulada de "nexo água-energia-alimentos" que, dentro dos seus múltiplos requisitos, essa cartilha estabelece: (i) eficiência no manejo de recursos naturais; (ii) uso de resíduos e efluentes como recursos em sistemas multiuso; e (iii) utilização dos biocombustíveis de terceira geração (Hoff, 2011; Liu, J. *et al.*, 2018; Pessôa *et al.*, 2021). As biorrefinarias à base de microalgas (BBMs), ilustradas na Figura 1, atendem a esses requisitos, sobretudo quando associadas ao tratamento de efluentes, fornecendo um arranjo produtivo circular trazendo benefícios ambientais, econômicos e sociais para as nações.

Figura 1 – A biorrefinaria à base de microalgas adere à agenda sustentável mundial e pode ser mais uma estratégia promissora para mitigar parte dos desafios globais



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

O conceito de biorrefinaria é análogo à refinaria de petróleo tradicional, que permite a geração de múltiplos produtos a partir do óleo mineral bruto (Pessoa *et al.*, 2021). Destarte, dito conceito visa converter a biomassa em produtos comerciais e energia, de modo que, à medida que a capacidade da biorrefinaria de produzir diferentes commodities aumenta, incrementa-se assim a sua competitividade (Kadri *et al.*, 2024; Siddiki *et al.*, 2022). Dentre o amplo espectro de biomassas possíveis de serem utilizadas, as de microalgas são promissoras em relação às fontes vegetais devido às suas altas taxas de fotossíntese que contribuem para mitigar a emissão de CO₂, à capacidade de remover nitrogênio, fósforo e outros componentes das águas residuais para seu desenvolvimento sem competir por água doce e à supremacia na produtividade de lipídios (Maghzian; Aslani; Zahedi, 2024; Peter *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022).

A água produzida (AP) é um efluente expressivamente gerado durante os processos de extração e produção de petróleo, sendo comumente encontrada em campos *offshore* e reservatórios maduros. Embora sua composição específica dependa de sua origem geológica, a AP é geralmente constituída por componentes perniciosos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX); hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), metais pesados, gases dissolvidos e até mesmo material radioativo (Alsarayreh *et al.*, 2022; Khairuddin *et al.*, 2024). Estima-se que, até 2029, o Brasil aumente sua produção de petróleo de 3 milhões para 5 milhões

de barris diários, tornando-se o quarto maior produtor do mundo (Goldberg, 2023). Assim, a geração de AP tenderá a acompanhar esse salto de produção, desencadeando preocupações ambientais. Os métodos convencionais de tratamento e separação da AP têm várias desvantagens que inviabilizam sua implementação, incluindo a complexidade, alto custo, formação de lodo e elevado consumo energético (Ammar; Khadim; Mohamed, 2018).

O tratamento biológico com microalgas, doravante chamado de biorremediação, surgiu como uma alternativa econômica, pois esses microrganismos podem utilizar simultaneamente o CO₂ atmosférico, a matéria orgânica e os sais inorgânicos da AP como substratos para o seu desenvolvimento (Khairuddin *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2023). No entanto, existem dois grandes desafios que devem ser levados em consideração: em função da composição complexa da AP, uma combinação de tratamentos pode ser necessária para melhorar o desenvolvimento da biomassa de algas neste efluente (Jiménez *et al.*, 2018). Além disso, a AP pode apresentar escassez de nitrogênio e fósforo, macronutrientes essenciais para o crescimento de microalgas. Essa deficiência pode resultar em uma diminuição da relação nitrogênio-fósforo (N/P), o que, por sua vez, pode afastar a relação carbono-nitrogênio (C/N) do ponto ótimo necessário para o desenvolvimento adequado desses microrganismos (Kadri *et al.*, 2024; Marques *et al.*, 2021). Por esses motivos, um pré-tratamento antes da biorremediação e a suplementação desses dois nutrientes podem ter um papel relevante no cultivo de microalgas em AP, principalmente por intermédio de uma mistura de efluentes.

O maior desafio no uso de efluentes para o crescimento de algas é a necessidade de uma etapa de diluição, acarretando num custo adicional para o fornecimento de água (Javed *et al.*, 2019). Este inconveniente pode ser resolvido misturando a própria AP com efluentes agroindustriais em substituição à usual suplementação com meios sintéticos dispendiosos. De um lado os efluentes agroindustriais podem facilitar a disponibilidade de macronutrientes às algas, melhorando assim o desenvolvimento da biomassa; do outro a diluição pode mitigar outras barreiras associados à composição da AP, incluindo a presença de compostos tóxicos e excesso de salinidade. Um efluente que se destaca sobremaneira no Brasil é a manipueira (MP), uma vez que se estima uma geração entre 300L e 600L de MP para cada tonelada de mandioca processada, de modo que, quando há descarte inapropriado, esse resíduo, que tem uma grande quantidade de nitrogênio e fósforo, torna-se um potencial agente poluidor por contribuir com a eutrofização de corpos d'água (Amorim *et al.*, 2016). De forma semelhante, o soro de leite, principal subproduto da fabricação de queijo, apresenta um elevado potencial poluidor, sendo até 100 vezes mais impactante do que o esgoto doméstico quando descartado de forma inadequada (Almeida; Silva, 2023). Esse descarte inadequado pode resultar em sérios

problemas ambientais, como a poluição do solo, das águas superficiais e subterrâneas, além de contribuir para a eutrofização (FAO, 2022; Santos, 2023). O Brasil, como terceiro maior produtor mundial de leite, com uma produção anual superior a 34 bilhões de litros distribuída em 98% dos municípios, enfrenta desafios significativos no tratamento do soro do leite, pois o processo de tratamento é oneroso, o que torna imperativa a busca por soluções de pesquisa inovadoras e eficientes (Mascarenhas, 2024; Revadam, 2021).

Assim, a economia circular pode ser praticada de forma sinérgica com mais de uma empresa ou, em um melhor cenário, diretamente com pequenos produtores rurais, associando as microalgas com os efluentes supracitados. A biomassa produzida após o cultivo com AP tem um alto valor biotecnológico; todavia, a sua valoração ainda tem sido pouco explorada na comunidade científica (Lutzu *et al.*, 2021; Pessôa *et al.*, 2022). Ademais, faz-se mister o desenvolvimento de pesquisas para melhorar a compreensão do crescimento de algas em AP (Concas; Lutzu; Turgut Dunford, 2021).

A pesquisa sobre (BBMs) em AP ainda está em estágio inicial. No entanto, para que uma biorrefinaria desse tipo seja autossustentável e ambientalmente correta, é necessário atender a alguns requisitos fundamentais. Por exemplo, é imperativo não apenas contar com uma fonte de carbono e macronutrientes provenientes de efluentes industriais para reduzir os custos de produção, mas também valorizar integralmente os coprodutos gerados (Diankristanti *et al.*, 2024; Singh *et al.*, 2024). Apesar disso, a comunidade científica tem focado predominantemente na biomassa microalgal, deixando uma lacuna significativa na pesquisa sobre o meio extracelular. Este meio é rico em biopolímeros de alto valor agregado, representando uma área pouco explorada no campo das microalgas em efluentes industriais, especialmente no contexto da AP (Borges *et al.*, 2024; Pessôa *et al.*, 2022).

As substâncias poliméricas extracelulares (EPS) possuem aplicações emergentes em diferentes segmentos industriais, sobretudo como modificadores de reologia, e estão presentes no meio sobrenadante, que geralmente são descartados após os cultivos (Jesus *et al.*, 2019). Outra aplicação promissora radica na biossíntese de nanopartículas metálicas (NPMs) por parte das microalgas. Por ser uma rota sustentável e isenta da utilização de solventes tóxicos a altas pressões e temperaturas, tem potencial para aplicações tecnológicas industriais, como, por exemplo, as nanopartículas de cobre (CuNPs), prata (AgNPs), zinco (ZnNPs), ouro (AuNPs) e ferro (Çalışkan *et al.*, 2020; Jacob *et al.*, 2021; Mora-Godínez; Abril-Martínez; Pacheco, 2022).

Portanto, para avançar as fronteiras da viabilização tecnológica das BBMs em AP, urge o aproveitamento integral dos produtos do meio intracelular e extracelular das microalgas no efluente, buscando explorar novos produtos, diminuir os custos e aumentar a competitividade

sistêmica. Mundialmente, as empresas de óleo e gás estão buscando alternativas para tornarem as suas cadeias produtivas mais sustentáveis (Mojarad; Atashbari; Tantau, 2018; Pagnano *et al.*, 2024). As microalgas apresentam-se como uma solução promissora dentro do modelo de bioeconomia circular, podendo contribuir significativamente para o novo paradigma econômico e produtivo almejado pelo recente plano de retomada da indústria, elaborado pela Confederação Nacional da Indústria (CNI, 2023). Embora ainda não estejam explicitamente elencadas na proposta, as microalgas se alinham perfeitamente ao recente programa brasileiro de neointustrialização, cuja quinta missão é focada na bioeconomia, descarbonização, transição e segurança energética.

Conforme salientou Celso Furtado (1999, p.76), quem pensa no desenvolvimento de um país do terceiro mundo deve maximizar suas vantagens relativas, aproveitando-se do vasto mercado interno. O Brasil é geograficamente vocacionado para a implantação de biorrefinarias de microalgas e possui um mercado interno de dimensão continental capaz de absorver esses bioprodutos. Isso demanda soluções tecnológicas inovadoras e sustentáveis das universidades, ao mesmo tempo em que gera empregos formais na nova economia verde e do conhecimento. Este trabalho visa avançar nas lacunas e desafios científicos para a viabilização tecnológica das BBMs, defendendo-as como um modelo promissor de bioeconomia circular a ser implementado no Brasil.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Agregar valor à água produzida, à manipueira e ao soro de leite a partir da síntese de bioprodutos por *Chlorella vulgaris*, bem como avaliar seus potenciais tecnológicos no contexto da biorrefinaria e bioeconomia circular.

1.1.2 Objetivos específicos

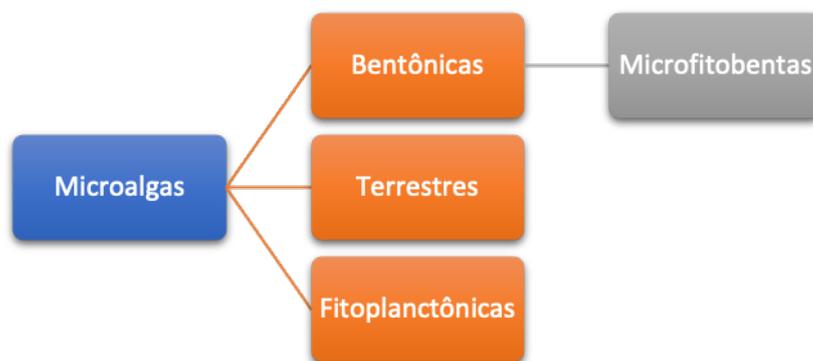
- Prospectar as tendências e lacunas tecnológicas do mercado global de microalgas em efluentes industriais, avaliando o ciclo de vida tecnológico (Curva-S);
- Caracterizar a manipueira para empregá-la como suplemento de macronutrientes às microalgas, substituindo parcialmente os meios sintéticos;
- Avaliar como o pré-tratamento da água produzida com carvão ativado e a suplementação com manipueira afetam a cinética microalgal e os bioprodutos (biodiesel, EPS e nanopartículas);
- Utilizar o planejamento experimental de Doehlert para avaliar os efeitos da agitação e concentração de água produzida e manipueira na produção de biomassa e de EPS, otimizando individual e simultaneamente essas respostas;
- Caracterizar quimicamente e reologicamente os EPS produzidos, bem como ajustar o comportamento reológico aos modelos matemáticos de Power Law e Cross;
- Investigar se o perfil de ácidos graxos da biomassa resulta em um biodiesel que atenda às normas europeias (EM ISO), americana (ASTMS) e brasileira (RANP4/10);
- Investigar o escalonamento desta biorrefinaria para reatores do tipo coluna de bolhas, utilizando o soro de leite como substituição parcial aos meios sintéticos, avaliando o papel do consórcio microalgas-bactérias no EPS produzido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROALGAS

As microalgas correspondem a um vasto grupo de microrganismos fotossintetizantes com mecanismos de consumo de energia e função ecológica similar às plantas. A cianobactéria, recentemente conhecida como alga verde-azulada, foi responsável por iniciar a era do oxigênio no planeta terra há aproximadamente 3 bilhões de anos (Patel *et al.*, 2017). Com relação às características estruturais, as microalgas são unicelulares ou pluricelulares simples, procariotas ou eucariotas, as quais podem estanciar em todos os tipos de ecossistemas, com elevada adaptabilidade quando submetidas a distintas condições ambientais (Moreno-Garcia *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2024). Embora corriqueiramente os termos “microalgas” e “fitoplâncton” sejam utilizados como intercambiáveis, eles não são sinônimos. A associação é induzida em função da predominância do hábito planctônico presentes nas microalgas, isto é, vivem majoritariamente em suspensão na coluna d’água. Todavia, as microalgas também podem ser terrestres e bentônicas (organismos que vivem em associação no fundo do mar), fazendo parte da categoria ecológica de microfítobentos (Lourenço, 2006). A Figura 2 ilustra essa divisão conceitual.

Figura 2 – Classificação ecológica das microalgas



Fonte: Elaborada pelo autor (2023)

As microalgas podem ser cultivadas e desenvolvidas por três vias: heterotróficas, autotróficas e mixotróficas. Autotróficas são as algas microscópicas que realizam a fotossíntese, ou seja, produzem o seu próprio alimento mediante a luz e CO₂ (carbono inorgânico); as heterotróficas são as algas que, desprovidas de luz, assimilam o carbono orgânico para seu

desenvolvimento, ao passo que as mixotróficas compreendem a associação das duas primeiras categorias. Alguns autores tendem a destacar o cultivo mixotrófico em detrimento dos outros, como, por exemplo, (Gao *et al.*, 2022; Manhaeghe *et al.*, 2020; Patel *et al.*, 2019), salientando que por intermédio desse método, obtém-se maiores produtividades de biomassa. Em contrapartida, outros alegam que o cultivo exclusivamente heterotrófico oferece mais benefícios em relação aos demais, devido à estabilidade de produção no decorrer do ano independente de clima ou localização, afora uma maior tolerância à altas concentrações de carbono orgânico (Jareonsin; Pumas, 2021; Silva *et al.*, 2021). O fato é que a escolha do método de cultivo não é trivial, dependendo da espécie a ser empregada, do objetivo do mesmo, assim como da região em que o cultivo é realizado. O Quadro 1 elucida a taxonomia existente entre duas microalgas que se desenvolvem em condições autotróficas, heterotróficas e mixotróficas.

Quadro 1 – Classificação da *Spirulina platensis* e da *Chlorella vulgaris*

Domínio	Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Espécie
Eucariota	Protista	Chlorophyta	Trebouxiophyceae	Chlorellales	Chlorellaceae	<i>Chlorella</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>
Prokaryota	Eubacteria	Cyanobacteria	Cyanophyceae	Spirulinales	Spirulinaceae	<i>Spirulina</i>	<i>Spirulina platensis</i>

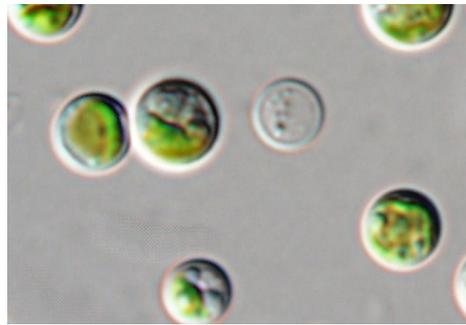
Fonte: Adaptado de <https://www.algaebase.org/>

Não obstante a *Spirulina platensis* pertença ao domínio procariótico e a rigor seja classificada como uma cianobactéria, em geral alguns autores tendem a chamá-la de microalga, ou especificamente de microalga procariótica, devido à similaridade dos cultivos, metabolismos e síntese de bioprodutos. No decurso da história, costumava-se reconhecer as microalgas de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica; entretanto, bacteriologistas recomendaram que a taxonomia de microalgas procarióticas (as cianobactérias) fosse realizada com base no Código internacional de Nomenclatura de bactérias (Costa; Moraes, 2019). Segundo Lourenço (2006), dentre as microalgas eucarióticas, as classes mais importantes são algas verdes (*Chlorophyta*), algas vermelhas (*Rhodophyta*) e as diatomáceas (*Bacillariophyta*). Nesse trabalho, o enfoque será nas algas verdes, em especial na *Chlorella vulgaris*.

2.1.1 *Chlorella vulgaris*

Conta-se que em 1890, Martinus Willem Beijerinck, um pesquisador holandês, descobriu a *Chlorella vulgaris* como a primeira microalga de núcleo bem definido. O nome *Chlorella* advém da palavra grega *chloros*, que significa verde, ao passo que o sufixo latino *ella* refere-se ao seu tamanho microscópico (Safi *et al.*, 2014). A Figura 3 apresenta a *Chlorella vulgaris* através de um microscópio.

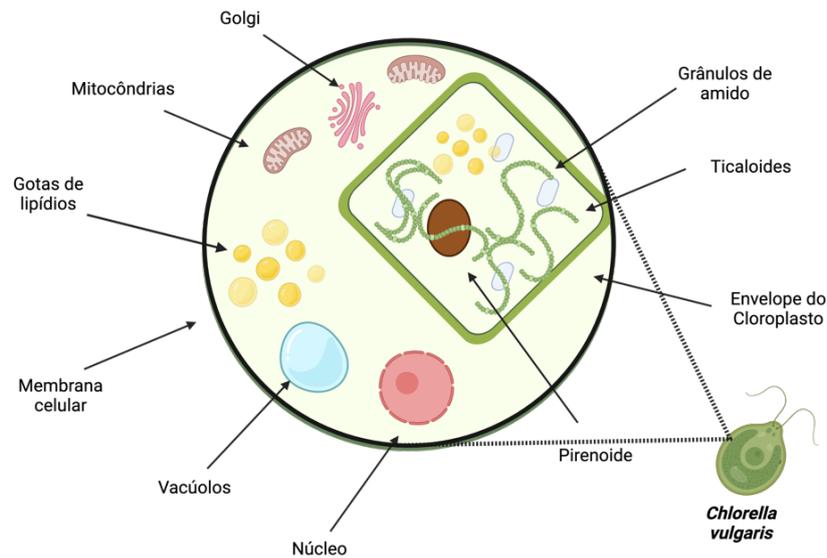
Figura 3 – Imagem microscópica da *Chlorella vulgaris*



Fonte: ccala.butbn.cas.cz

O gênero *Chlorella* apresenta uma morfologia de forma esférica, globular ou elipsoidal, com células com tamanho entre 3–6 μm , que podem ser encontradas isoladas ou em colônias (Calderón-Delgado; Mora-Solarte; Velasco-Santamaría, (2019); Lei *et al.*, 2006; Mora-Solarte; Velasco-Santamaría, 2019). As espécies pertencentes a este gênero são encontradas em ambientes terrestres, marinhos e de água doce. A Figura 4 ilustra a similaridade relativa das organelas da *Chlorella* e das plantas.

Figura 4 – Organelas presentes na *Chlorella vulgaris*



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Dentre as particularidades da Figura 4, cabe destacar que a rigidez da membrana celular preserva a integridade da célula, sendo basicamente uma proteção contra invasores e ambientes hostis, podendo ser alterada de acordo com cada fase de crescimento. Os grânulos de amidos, compostos de amilose e amilopectina, podem ser formados dentro dos cloroplastos, especialmente ante condições adversas de crescimento (Safi *et al.*, 2014). Uma eventual depleção de nitrogênio pode desencadear em baixas taxas de respiração, culminando em um aumento das reservas de lipídios. Essa característica é desejável, pois o gênero *Chlorella* tem se destacado como uma matéria-prima potencial para produção de biodiesel (Hajjar Rakhmadumila; Setiani Muntalif, 2020.). Incluindo a *Chlorella*, a Tabela 1 explana a composição típica de alguns gêneros e espécies em contraste com alguns alimentos.

Tabela 1 – Composição bioquímica de algumas espécies de microalgas em (%) em comparação aos alimentos

Espécie	Proteínas	Carboidratos	Lipídeos	Ácido nucléicos
<i>Botryococcus braunii</i>	40 - 43	2 – 2,5	33 – 35	--
<i>Chlorella vulgaris</i>	51 - 58	12 - 17	14 – 22	4 – 5
<i>Euglena gracilis</i>	39 – 61	14 - 18	14 – 20	--
<i>Porphyridium cruentum</i>	28 – 39	40 - 57	9 – 14	--
<i>Spirulina platensis</i>	46 – 63	8 - 14	4 – 9	2 – 5
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Leite</i>	26	38	28	-
<i>Carne</i>	43	1	34	-
<i>Fermento de padeiro</i>	39	38	1	-

Fonte: Adaptada de (Lourenço, 2006; Minhat *et al.*, 2016)

A depender do tipo de produto almejado, pode-se direcionar a pesquisa para uma microalga específica. A *Spirulina platensis*, por exemplo, conforme a Tabela 1, tem o maior percentual de proteínas e por essa razão esta tem sido um vetor para suplementação alimentícia, onde já vem sendo utilizada na Ásia há mais de 700 anos (Patel *et al.*, 2017; Severo *et al.*, 2024). Já a *Chlorella* apresenta um maior percentual de lipídios e carboidratos em comparação à *Spirulina* e outras espécies, de modo que, a depender da estratégia bioquímica empregada no cultivo, esta microalga pode atingir até 55% de acúmulo de lipídios (Barre; Bates, 2018; Enzing *et al.*, 2014). Ademais, a *Chlorella* é uma microalga versátil que se adapta muito bem em meios heterotróficos (Patel, *et al.*, 2018), possuem uma capacidade apreciável de produzir carotenoides em relação aos demais gêneros (Araya *et al.*, 2014) e crescem consideravelmente rápido (Liang; Sarkany; Cui, 2009).

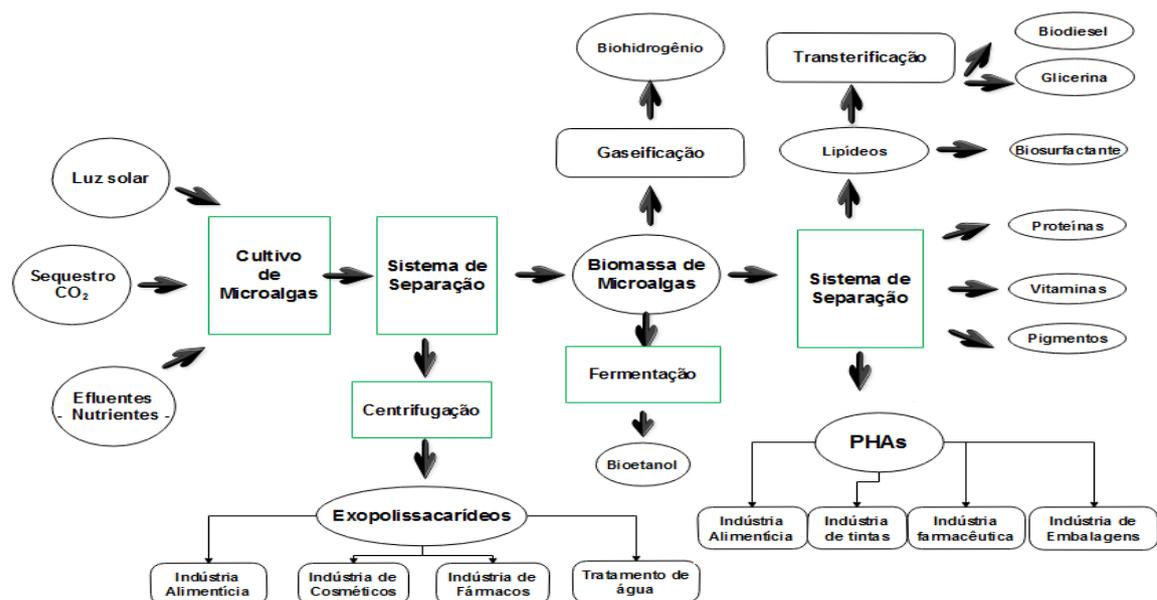
Quando comparadas aos alimentos mencionados anteriormente, as proteínas de origem algal demonstram-se iguais ou superiores em conteúdo proteico. No entanto, ressalta-se que as microalgas não podem substituir totalmente os alimentos convencionais, principalmente considerando-se os riscos relacionados ao consumo de ácidos nucléicos, mas, sem dúvidas, elas cumprem um papel-chave como complementos alimentares, podendo ser empregadas como alimentos nutracêuticos (Lourenço, 2006). Do ponto de vista mercadológico, com uma produção anual de 3 mil e 4 mil toneladas, a *Spirulina* e a *Chlorella* representam, respectivamente, os gêneros com maior aplicação comercial (Morais *et al.*, 2015; Severo *et al.*, 2024).

Por serem relativamente simples quando comparadas às plantas terrestres, a energia adquirida pelas microalgas é direcionada para o crescimento e reprodução, logrando-se, assim, taxas de reprodução substanciais em comparação às plantas, que são multicelulares. O cultivo das microalgas, então, se torna cada vez mais vantajoso; pois, além de não necessitarem de terras aráveis (i.e., não competem com produtores de alimentos), não requerem tempos longos de crescimento, tampouco necessitam de água potável, uma vez que podem ser cultivadas em águas salinas e efluentes domésticos e industriais (Serejo, 2012; Silva *et al.*, 2021). Apesar da inclinação mundial ao mercado de proteínas, a versatilidade metabólica e adaptativa das microalgas descortina numerosas e promissoras aplicações biotecnológicas e industriais.

2.1.2 Aplicações industriais e biotecnológicas envolvendo as microalgas

Segundo Costa e Morais, (2019, p. 504), em menos de uma década, a biomassa tornar-se-á um dos principais recursos renováveis para a obtenção de materiais, produtos químicos, combustíveis e energia. Portanto, o potencial global de aplicação de biomassa é grande, sobretudo quando originada via microalgas. A Figura 5 apresenta um panorama geral sobre alguns dos principais mercados e aplicações da biomassa de algas.

Figura 5 – Rotas para o aproveitamento biotecnológico da biomassa de microalgas



Fonte: Adaptada de Patel *et al.* (2017)

O conceito de biorrefinaria é ilustrado mediante os diferentes produtos que podem ser obtidos. Conforme supracitado, três insumos são necessários para iniciar a cadeia: luz solar ou artificial, biofixação de CO₂ e sais inorgânicos (que podem ser obtidos por efluentes industriais). Os combustíveis de terceira geração podem ser obtidos mediante os lipídios (biodiesel) ou os carboidratos (bioetanol), através das tecnologias de transterificação e fermentação, respectivamente. As substâncias poliméricas extracelulares (EPS), também denominadas na literatura como exopolímeros ou exopolissacarídeos, devido à sua fração majoritária ser composta por polissacarídeos, apresentam um notável potencial biotecnológico e mercadológico em indústrias alimentícias, farmacêuticas, biomédicas e de tratamento de água (Jesus *et al.*, 2019; Morais *et al.*, 2022; Rehm, 2010). Revelar os papéis fundamentais dos EPS nos processos do ciclo de vida das microalgas é um tópico interessante e inovador para alcançar a aplicação prática e eficiente em termos energéticos das microalgas (Zhou *et al.*, 2024). Embora as investigações sobre EPS sejam extensas para sistemas bacterianos, menos se sabe sobre os EPS de microalgas, especialmente quando associados à valoração de águas residuais (Borges *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2024). Os polihidroxialcanoatos (PHAs), bioplásticos que possuem propriedades mecânicas similares aos de matriz petroquímica, tem sido estudado nos últimos anos pela comunidade científica (Costa *et al.*, 2019; Dimri *et al.*, 2023; Karan *et al.*, 2019), sendo promissor para vários segmentos industriais.

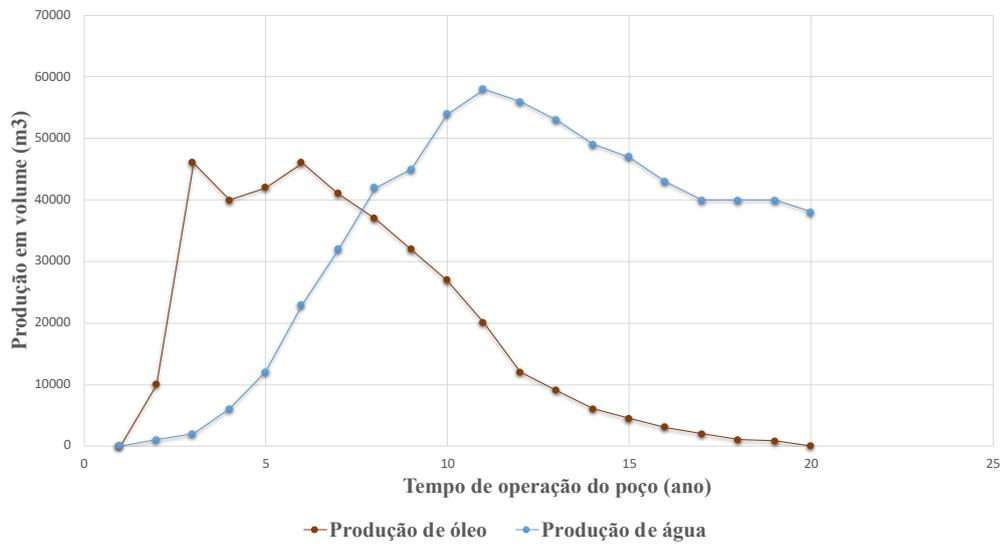
Um dos aspectos que encarecem a transposição de escala das microalgas é o custo do meio de nutrientes. Uma forma de sobrepujar este obstáculo é a utilização de efluentes industriais (Feng; Li; Zhang, 2011; Pessôa *et al.*, 2021). A utilização de efluentes líquidos e gasosos como fonte de nutrientes culmina num duplo benefício: o tratamento dos mesmos e a geração de biomassa. Por exemplo, segundo Costa e Morais (2019, p 504), desde 2005, no Brasil, a usina termoeletrica Presidente Médici tem uma planta piloto de microalgas com objetivo de realizar a biofixação de CO₂ liberado pela queima do carvão mineral, aplicando as cinzas deste combustível fóssil no cultivo. Nesta usina, testou-se durante dez dias o crescimento dos dois gêneros destacados anteriormente com injeções intermitentes de gás de combustão: a *Chlorella fusca* LEB 111 e a *Spirulina sp.* LEB 18. Ao final do décimo dia, observou-se que *Chlorella fusca* LEB 111 apresentou 2,6 vezes mais biofixação de dióxido de carbono, demonstrando um crescimento em fase exponencial, ao passo que a *Spirulina sp.* LEB 18 mostrou uma redução do crescimento celular. Portanto, embora a *Chlorella* tenha se destacado, os autores concluíram que ambas as microalgas podem ser utilizadas para biofixação de CO₂ e crescimento nesse tipo de efluente industrial.

Desse modo, com o advento do paradigma de economia circular e o potencial inerente das microalgas de crescimento em rejeitos industriais, diferentes efluentes têm sido estudados nos últimos anos nos rincões do mundo. Mediante relações de parceria público-privada com empresas de segmentos diversos esses modelos podem mitigar os passivos ambientais gerados, trazendo mais competitividade para os arranjos produtivos. Seguindo essa toada, a água produzida, por exemplo, é um efluente proveniente da indústria de exploração e produção de petróleo presente nas modalidades *offshore* e *onshore*, isto é, no mar e terra, respectivamente.

2.2 ÁGUA PRODUZIDA

Água produzida (AP) é o maior efluente gerado pelas empresas responsáveis pela exploração e produção de petróleo no mundo (Ferreira, 2016). Nas atividades de exploração, perfuração e produção a água produzida responde por 98% de todos os efluentes gerados (Thomas, 2001). Dois aspectos são relevantes da água produzida: O volume gerado e a sua complexa composição. Estima-se que o volume global produzido seja na ordem de 39.5 Mm³/dia (Jiménez *et al.*, 2018), isto é, um valor de aproximadamente 248 milhões de barris por dia. O Brasil, por sua vez, responde por uma parcela aproximada de 3,8 milhões de barris por dia com perspectivas de chegar em 5 milhões de barris por dia até o final de 2029 (Goldberg, 2023). No que tange à composição, tem-se os principais constituintes: óleo (BTEX), minerais dissolvidos da formação, inibidores de corrosão, gases dissolvidos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), minerais dissolvidos da formação, fenóis, sais inorgânicos (Jiménez *et al.*, 2018), onde a composição será diferente para cada poço, em virtude das características geológicas. A relação entre a geração de AP e a extração de petróleo dos reservatórios é de aproximadamente 3:1, e estima-se que chegue a 12:1 até 2025 devido ao envelhecimento dos poços de petróleo (Al-Ghouti *et al.*, 2019). A Figura 6 ilustra como a idade do poço de petróleo afeta diretamente a taxa de produção da AP. Nota-se que, após o oitavo ano, a produção de água começa a ser prevalente em relação ao óleo, chegando em uma relação média final de 10:1.

Figura 6 – Comparação anual entre a produção de água e óleo em um poço

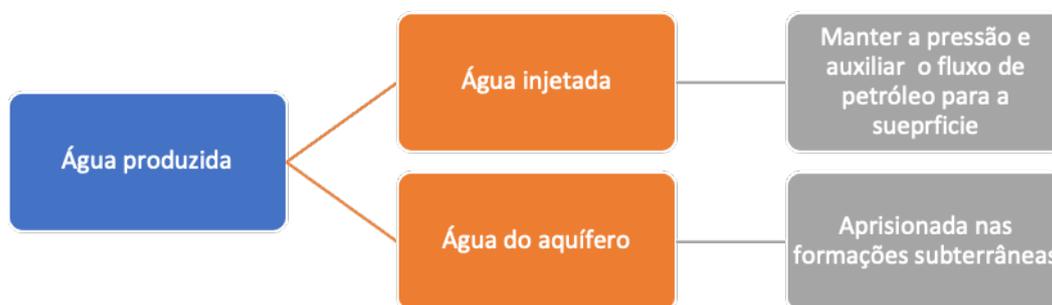


Fonte: Alsarayreh *et al.* (2022)

Os ecossistemas, particularmente os que se destinam às indústrias petrolíferas, têm estado sujeitos à degradação ambiental resultante das atividades operacionais (Liu *et al.*, 2021; Macêdo-Junior *et al.*, 2023). Normalmente, a descarga de AP parcialmente tratada é permitida em quantidades padrão específicas. Entretanto, existe uma grande possibilidade de que, com o tempo e o aumento da demanda de óleo, essa água possa causar toxicidade crônica (Amakiri *et al.*, 2022)

O conceito de água produzida engloba tanto a água aprisionada nas formações subterrâneas que é trazida à superfície juntamente com petróleo e gás durante a produção, quanto àquela que é injetada para manter a pressão hidráulica no reservatório e aumentar a recuperação do óleo.

Figura 7 – Comparação anual entre a produção de água e óleo em um poço



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Em linhas gerais, três destinos podem ser dados para a AP: descarte, reinjeção e reuso. Nas operações *onshore* a prática mais adotada é a reinjeção, ao passo que na produção *offshore* é o descarte para o mar (Jiménez *et al.*, 2018; Thomas, 2001). Em ambos os casos, faz-se necessário reduzir o teor de óleo e os sólidos dissolvidos seja para atender as exigências ambientais ou para evitar inconvenientes de processo (i.e, danos nas bombas e tubulações). Para os tratamentos convencionais da AP, tem-se a dispor os métodos físicos e químicos. Motta *et al.* (2013) elencam que um dos processos mais utilizados é a flotação a ar precedida da adição de produtos químicos desmulsificantes, além dos hidrociclones, coalescedores de leite e separadores gravitacionais. Recentemente, Kadri *et al.* (2024) reportaram que a osmose reversa, ultrafiltração e troca iônica podem ser parcialmente eficazes no tratamento da AP. No entanto, se por um lado ditos processos são dispendiosos e estritamente dependentes das específicas características da água produzida (Ammar; Khadim; Mohamed, 2018); por outro apresentam tempo de residência elevado, utilização de produtos químicos onerosos, geração de resíduo sólido, baixas eficiências e alto consumo energético (Kadri *et al.*, 2024; Motta *et al.*, 2013). De fato, a integração de múltiplos métodos pode resultar em melhores resultados, pois cada método possui suas desvantagens (Khairuddin *et al.*, 2024).

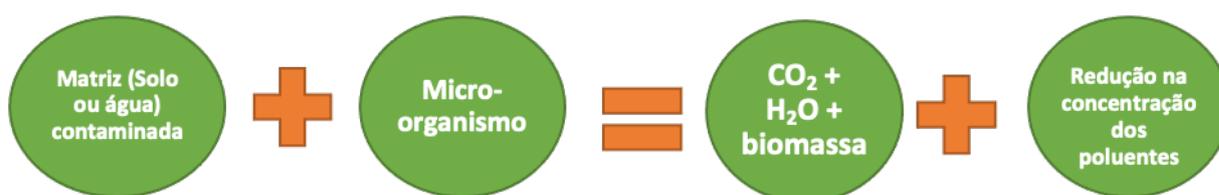
Nesse contexto, o tratamento biológico (biorremediação) se apresenta por ser econômico, mais simples e potencialmente mais ecológico (Ammar; Khadim; Mohamed, 2018; Kadri *et al.*, 2024). O sistema de tratamento da AP deve ser sustentável, eficiente e seguro para satisfazer a exploração em larga escala da produção *offshore* e *onshore* de petróleo e gás no presente-futuro.

2.3 BIORREMEDIAÇÃO E FICORREMEDIAÇÃO

Conceitua-se de biorremediação o processo no qual organismos vivos (e.g., plantas, microrganismos ou suas enzimas) são empregados tecnologicamente para remover ou mitigar poluentes em uma matriz ambiental, como água ou solo. A Agência de Proteção Ambiental Americana (US-EPA, 2001) define biorremediação como o processo de tratamento que utiliza a ocorrência natural de microrganismos para degradar substâncias toxicamente perigosas, transformando-as em substâncias inócuas. Alguns autores agregam ainda que, como os microrganismos utilizam os substratos orgânicos e inorgânicos como fonte de alimentação, os contaminantes são convertidos também em CO_2 e H_2O (Francisco; Queiroz, 2018).

Não obstante as vastas conceituações existentes, o consenso é que a biorremediação é um processo multidisciplinar que requisita o apoio de distintas áreas do conhecimento. Alexander Martin (1999) elencou no seu livro intitulado *Biodegradation and Bioremediation* que o processo se desencadeia em nível microbiológico, o comportamento dos constituintes segue os princípios químicos, as mudanças na toxicidade e o grau de risco à exposição concernem à área de saúde e meio ambiente e as tecnologias desenvolvidas são contribuições da engenharia. Assim, todas essas áreas anelam, sinergicamente, economicamente e ecologicamente um único objetivo ilustrado na Figura 8:

Figura 8 – Equacionamento da tecnologia de biorremediação



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Do ponto de vista do contaminante, este se subdivide em duas categorias: xenobióticas (moléculas estranhas ao ambiente natural) e recalcitrantes (moléculas de difícil degradação). O ataque nestes contaminantes funciona por intermédio de diferentes enzimas secretadas pelos microrganismos, a saber: Enzimas hidrolíticas, desidrogenase, oxidoredutase. Quanto à sua forma específica, a biorremediação desempenhada pelas microalgas é conhecida na literatura

como fitorremediação (Borah; Rout; Nooruddin, 2024; Kadri *et al.*, 2024), que pode ser desmembrada em três mecanismos diferentes de atuação: bioissorção, bioacumulação e biodegradação (Abdelfattah *et al.*, 2023; Khairuddin *et al.*, 2024; Touliabah *et al.*, 2022).

A bioissorção é um processo de adsorção física passivo, isto é, independente do metabolismo das algas. Através da transferência de massa, os contaminantes são deslocados da fase líquida para a superfície da parede celular, por meio de troca iônica, complexação de superfície e interações eletrostáticas, podendo ocorrer estes fenômenos de forma simultânea a diferentes taxas (Lutzu *et al.*, 2021). Observada inicialmente em microalgas nos anos 1970, a bioissorção é facilitada pela composição química e estrutura da parede celular das microalgas, que possuem grupos funcionais como carboxila, hidroxila e sulfato, atuando como sítios de ligação para íons metálicos e substâncias orgânicas (Abdelfattah *et al.*, 2023).

Por outro lado, a bioacumulação é um processo ativo e dependente do metabolismo da célula microalgal. Trata-se de um mecanismo bifásico onde íons metálicos são inicialmente adsorvidos rapidamente na superfície celular e, posteriormente, transportados irreversivelmente para o citoplasma (Lutzu *et al.*, 2021). Semelhante à absorção de nutrientes, esse processo permite que metais ou compostos orgânicos prejudiciais sejam incorporados na estrutura celular. Utilizando a bioacumulação, células vivas podem desintoxicar resíduos ao absorver, acumular ou metabolizar essas substâncias, aumentando a geração de biomassa em condições de crescimento adequadas (Abdelfattah *et al.*, 2023; Malik; Garg, 2024).

Por fim, a biodegradação é um processo ativo e dependente do metabolismo das microalgas, que degrada compostos complexos em blocos químicos mais simples e menos tóxicos, utilizando o ferramental enzimático disponível (Abdelfattah *et al.*, 2023). Em contraste com a bioacumulação e a bioissorção, que envolvem microrganismos atuando como filtros biológicos para concentrar poluentes e separá-los da água circundante, a biodegradação implica na decomposição dos poluentes-alvo. Essa decomposição pode ocorrer através da mineralização completa das moléculas parentais em CO₂ e H₂O, ou por meio da biotransformação, que envolve uma série de reações enzimáticas para produzir diferentes intermediários metabólicos (Abdelfattah *et al.*, 2023; Touliabah *et al.*, 2022)

A biodegradação mediada por microalgas pode ocorrer tanto extra quanto intracelularmente, ou em uma combinação de ambos. Nesse processo, a degradação extracelular é seguida pela decomposição intracelular dos intermediários. A degradação extracelular baseia-se em substâncias poliméricas extracelulares (EPS), ou exopolímeros, excretados principalmente por microalgas. Os EPS funcionam como um sistema digestivo externo, aumentando a biodisponibilidade dos poluentes para futura bioacumulação (Abdelfattah *et al.*,

2023). O aprofundamento técnico-científico da fitorremediação em escala industrial enfrenta diversas barreiras de natureza geográfica, especialmente em países de zonas temperadas e frias. No entanto, o Brasil possui inúmeras peculiaridades que o qualificam como um país vocacionado para as biorrefinarias, posicionando-o como um potencial líder nos novos paradigmas ambientais do século XXI.

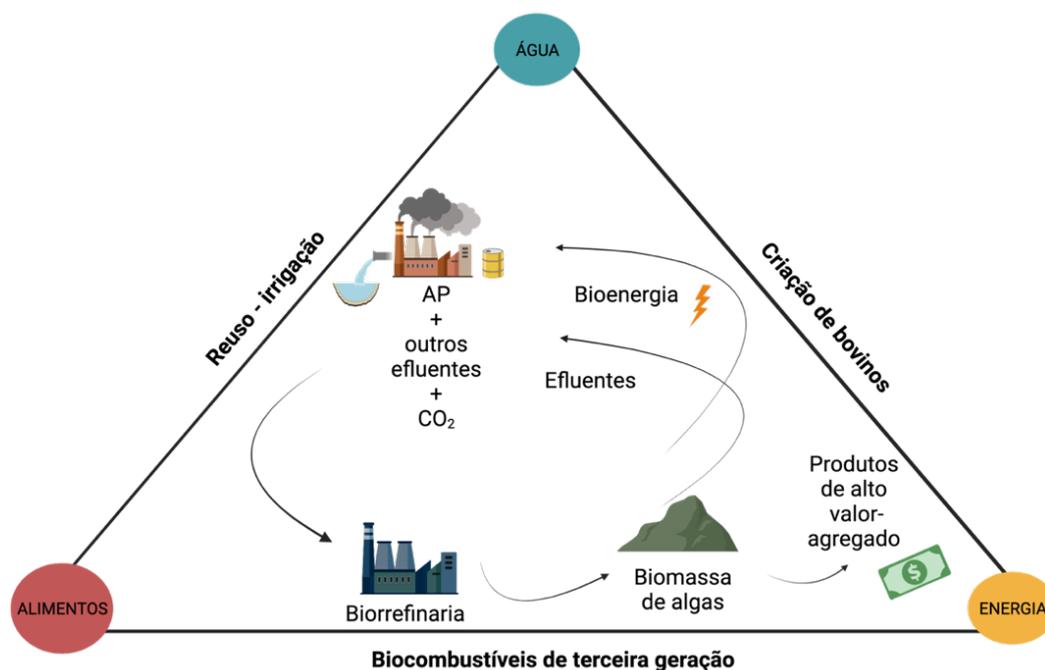
2.4 PARADIGMAS DO SÉCULO XXI, BIORREFINARIA E VOCAÇÃO DO BRASIL

Um dos maiores desafios à aplicação extensiva do cultivo de microalgas reside na necessidade de água. Segundo Hu *et al.*, (2022) estima-se que o mundo, até 2030, enfrentará uma escassez de água de 40%. Dado o seu valor estratégico, econômico e de manutenção da vida, a Assembleia Geral das Nações Unidas propôs a Década Internacional para Ação – Água para o Desenvolvimento Sustentável (2018–2028) para colocar maior foco na sustentabilidade da água por 10 anos (United Nations [2017]). Uma forma de equacionar a problemática da escassez de água é o cultivo das microalgas em efluentes, em especial enfocando-se no reaproveitamento da AP, dado o seu volume expressivo de geração. Assim, esse marco internacional favorece a justificativa para o financiamento de estudos voltados à fitorremediação da AP, pois o desenvolvimento de tecnologias desta natureza pode ajudar a tornar o acesso global à água mais viável.

Paradoxalmente, alguns países da África e do Oriente médio, como, por exemplo, Nigéria, Egito e Kuwait, embora sejam detentores de grandes reservas de petróleo, padecem de crises hídricas. Essa é uma vantagem comparativa que o Brasil pode se especializar, exportando solução tecnológica para outros países, gerando, ao mesmo tempo, empregos de maior qualidade, inovação local, e solução para um problema de natureza global. Conforme citado na introdução, as BBMs em AP também estão alinhadas à cartilha do nexo água-energia-alimento devido à possibilidade de atender simultaneamente e sinergicamente esses três pilares. Desde que seja rigorosamente monitorado dentro das normas de segurança, como destacado por Al-Ghouti *et al.* (2019), pode-se reutilizar a água remanescente e biorremediada para irrigação, bem como para a pecuária.

Concernente ao pilar energético, a biomassa de microalgas proveniente do cultivo com AP está sujeita a diversos fatores geradores de estresse que possibilitam o acúmulo de lipídios e posterior produção de biodiesel, o que atende à recomendação da cartilha para o uso de combustíveis de terceira geração. A Figura 9 ilustra a abordagem circular inserida no tripé do nexo que está inserida as BBMs em AP.

Figura 9 – Relação entre a economia circular e os aspectos do nexo água, alimentos e energia



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Li, Li e Ho (2022) relataram que a combinação do tratamento de águas residuais com a produção de biodiesel de microalgas é uma solução crucial para a crise energética do terceiro mundo. Os pesquisadores destacaram que os efluentes promovem o suprimento de carbono orgânico, aumentam a concentração de ferro e a salinidade, e essas são as abordagens mais comuns para aumentar o acúmulo de lipídios na biomassa de algas. A AP é abundante em carbono orgânico, ferro e salinidade.

Bautista Vidal, eminente engenheiro e físico baiano que encabeçou o programa nacional do álcool (PRÓ-ALCOOL), teceu uma crítica aos dirigentes brasileiros, juntamente com o sociólogo Gilberto Vasconcelos, no livro “*O Poder dos Trópicos*”. Segundo o professor Vidal, há uma alienação energética na cultura brasileira, que se afeiçoou aos hidrocarbonetos no setor de transportes, quando, na verdade, o Brasil é o país vocacionado para os hidratos de carbono, isto é, para biomassa. Os requisitos elencados pelos professores são quatro, a saber: (i) o Brasil é a maior nação solar do planeta terra, (ii) detém a maior parcela de água doce do mundo; (iii) tem dimensões continentais e (iv) a implantação da biorrefinaria permitiria uma ampla criação de empregos, fortalecendo o mercado interno e dinamizando a economia brasileira. O enfoque

dos professores é na biomassa tradicional das oleaginosas, principalmente o babaçu, girassol, dendê, entre outras, enfatizando que a eloquente produtividade advinda dessas oleaginosas credenciaria o Brasil como a “Arábia Saudita Verde” (Vasconcelos; Vidal, 1998). Embora assertivos na crítica, os autores não mencionaram a biomassa de microalgas, provavelmente em função da incipiência deste tema que começara a ganhar vigor apenas a partir de 2006, conforme ilustra Garrido-Cardenas *et al.* (2018).

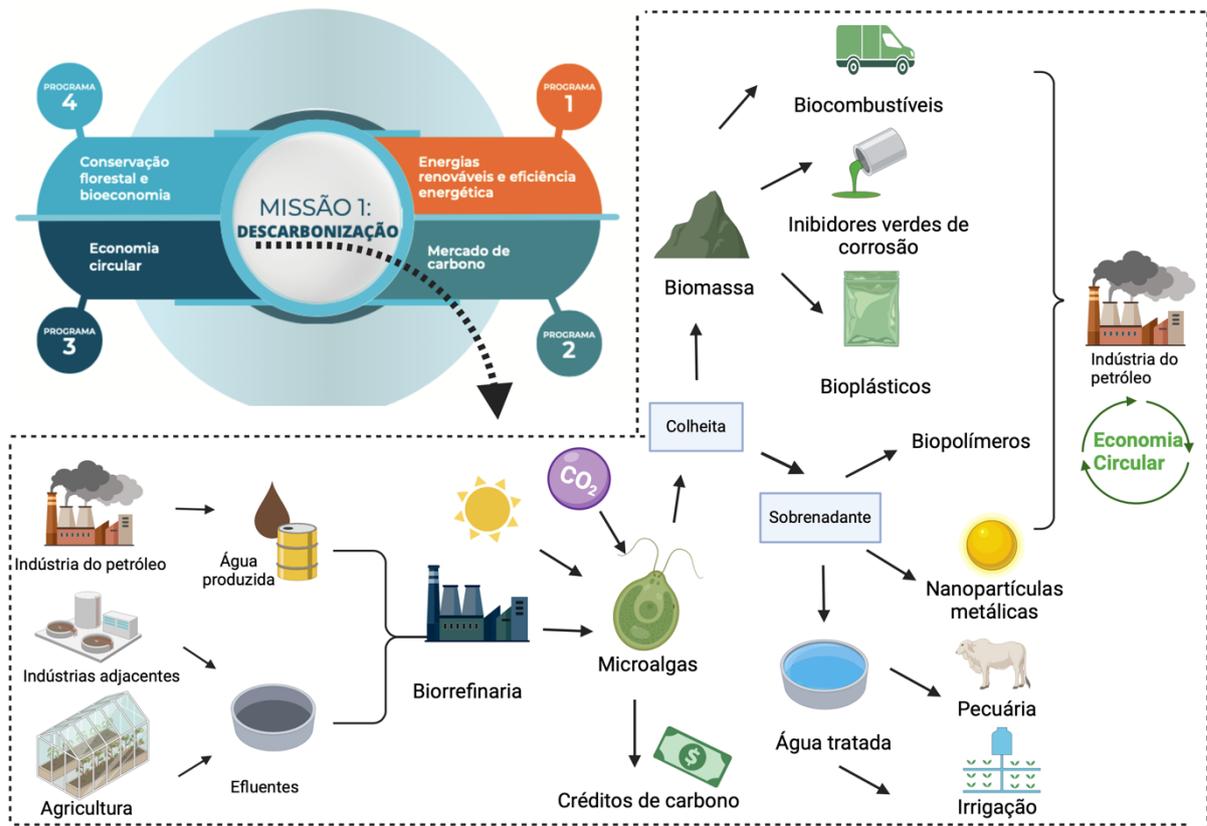
Contudo, Santos *et al.* (2021) contribuiu notavelmente para esta temática ao destacar seis aspectos competitivos para a implementação de BBMs no Brasil: (i) radiação solar constante com temperaturas relativamente amenas; (ii) enorme biodiversidade de microalgas; (iii) terra abundante; (iv) disponibilidade de água e efluentes; (v) disponibilidade de resíduos e matéria-prima barata de CO₂; e (vi) a já existente capilaridade do agronegócio. Notadamente, esses aspectos também estão presentes em graus semelhantes em outros países (principalmente subdesenvolvidos) e podem fornecer caminhos para um novo paradigma de neointustrialização.

Por exemplo, Brasil, Silva e Siqueira (2017), pesquisadores da Embrapa, ilustraram um interessante modelo de economia circular utilizando AP como meio de crescimento de microalgas juntamente com o tratamento hidrotérmico de biomassa para extração de óleo, condicionando-a como matéria-prima para a produção de inúmeros bioprodutos, incluindo biocombustíveis, eletricidade, biomateriais, e produtos químicos de base biológica. Segundo os pesquisadores, uma redução de custos de mais de 50% pode ser obtida se os nutrientes, água e cultivo de microalgas forem alcançados a baixo custo, o que possibilitaria, conseqüentemente, uma integração sinérgica entre a biorrefinaria de algas e outras indústrias no Brasil. Essa geração de novos modelos produtivos circulares, prodigiosamente assentados na vocação brasileira, podem ser replicados globalmente, em consonância com os paradigmas do século XXI. Estas tendências dialogam com a nova política industrial encabeçada pelo Estado brasileiro, a Nova Indústria Brasil (NIB) (Brasil, 2024), assim como o plano de retomada industrial divulgado pela Confederação Nacional das Indústrias (CNI, 2023).

2.5 PLANO DE RETOMADA DA INDÚSTRIA E NOVA INDÚSTRIA BRASIL

Em um cenário geopolítico complexo após a pandemia da COVID-19 sucedido pela guerra entre Rússia-Ucrânia, evidenciou-se a fragilidade das cadeias de suprimentos internacionais, onde ocorrera, em muitos países, o desabastecimento e/ou oneração de itens básicos de saúde e alimentação para a população (Lacerda, 2022). Com isso, e em função da proeminência do desenvolvimento científico e tecnológico asiático nos últimos anos, o debate sobre o papel da reindustrialização voltou à agenda do ocidente (Araújo; Feijó, 2024). Neste contexto, a Confederação Nacional das Indústrias publicou um documento intitulado de *Plano de Retomada da Indústria*, destacando a necessidade premente do país construir uma estratégia clara e consistente rumo ao desenvolvimento industrial para enfrentar esse complexo cenário global (CNI, 2023), bem como fazer frente aos desafios estruturais do Brasil. De acordo com o documento, as políticas industriais passaram por uma nova estruturação conceitual, isto é, a ser guiadas pela perspectiva de missões, endereçando os desafios sociais como pedra angular, com um olhar a longo prazo, intersetorialmente encadeadas e com objetivos em inovação, descarbonização, inclusão e crescimento sustentável (CNI, 2023). Apesar do documento abordar cinco missões relevantes, a primeira missão consiste em desenvolver uma economia de baixo carbono, com estímulos à descarbonização da indústria, à transição energética e à promoção da bioeconomia circular. Assim, a Figura 10 ilustra o desenho desta primeira missão, de descarbonização, representada em quatro pilares: economia circular, mercado de carbono, bioeconomia e energias renováveis.

Figura 10 – 1ª missão do plano de retomada da indústria brasileira e a sua possível aderência às BBMs



Fonte: Adaptada de CNI (2023)

Embora o documento não faça menção às BBMs, observa-se no esquema acima que os objetivos da missão de descarbonização e os seus quatro pilares são, em menor ou maior grau, atinentes aos objetivos desta tese. Partindo da valoração de efluentes industriais, pode-se operacionalizar a bioeconomia circular através da síntese de um espectro de produtos diversificados que podem atender, inclusive, as próprias indústrias de fornecimento destes efluentes, gerando, à semelhança de *Kalundborg* na Dinamarca, um modelo de simbiose industrial. Ao mesmo tempo, ter-se-ia a possibilidade de gerar créditos de carbono pelas características geográficas destacadas anteriormente do Brasil, onde a captura de carbono, assim como na Índia, é excepcionalmente favorecida para as microalgas que capturam com uma capacidade de 10 a 50 vezes superior a qualquer planta terrestre (Maghzian; Aslani; Zahedi, 2024; Patel *et al.*, 2021).

Ainda sobre o potencial de descarbonização e créditos de carbono, Wiesberg *et al.* (2017) evidenciaram que a biorrefinaria baseada em microalgas alcançou uma eficiência superior na captura de CO₂ (73%) a um custo significativamente reduzido de 139 \$/ton, em contraste com a rota tradicional de captura e armazenamento de carbono, que apresenta uma

eficiência de 48% e um custo de 304 \$/ton. A integração de fluxos de resíduos, como gases de combustão e águas residuais, como insumos para a BBMs, pode ainda mais diminuir os custos de captura de carbono, posicionando-se como uma solução promissora e economicamente viável para as indústrias enfrentarem as imposições fiscais relacionadas à taxa de carbono. Como o projeto de lei sobre o mercado e regulação de carbono está em vias de ser sancionado no Brasil, assim como a *Política Nacional de Economia Circular*, estes marcos regulatórios podem impulsionar ainda mais o potencial, circularidade e competitividade das BBMs.

De forma a endossar o plano de retomada da indústria, lançou-se, recentemente, a *Nova Indústria Brasil* ou o programa de neointustrialização brasileiro. O termo empregado deixa de ser “reindustrialização”, pois agora entende-se que está sob novas duas bases: sustentabilidade e inclusão social (Rodrigues, 2023). Este plano visa, dentre outros, três objetivos-macro: adensamento tecnológico nacional, geração de empregos de qualidade e reposicionar o Brasil no mercado internacional (Brasil 2024). O plano tem um horizonte temporal de 10 anos, até 2033, com financiamento público previsto em R\$ 300 bilhões até 2026.

A NIB foi estabelecida pela Resolução CNDI/MDIC nº 1 de 06 de julho de 2023, com o objetivo de orientar as ações do governo brasileiro para estimular o desenvolvimento produtivo e tecnológico, aumentar a competitividade industrial e direcionar melhor os investimentos. A NIB adota a inovação e a sustentabilidade como princípios fundamentais, estruturando suas políticas em torno de seis missões estratégicas:

- **Missão 1:** Cadeias agroindustriais sustentáveis e digitais para assegurar a segurança alimentar, nutricional e energética.
- **Missão 2:** Complexo econômico-industrial da saúde resiliente para reduzir as vulnerabilidades do SUS e ampliar o acesso à saúde.
- **Missão 3:** Infraestrutura, saneamento, habitação e mobilidade sustentáveis para promover a integração produtiva e o bem-estar urbano.
- **Missão 4:** Transformação digital da indústria para aumentar a produtividade.
- **Missão 5:** Bioeconomia, descarbonização e transição energética para garantir recursos para as futuras gerações.
- **Missão 6:** Tecnologias de interesse para a soberania e defesa nacionais.

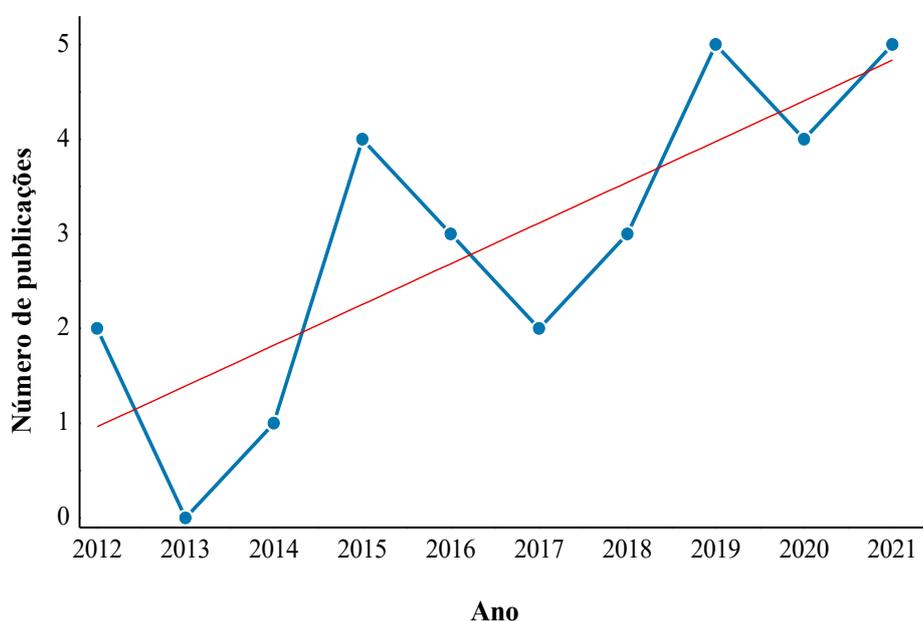
Cada missão é guiada por objetivos específicos e acompanhada por metas aspiracionais. Elas incluem desafios associados, áreas específicas para o desenvolvimento de nichos industriais, além de instrumentos financeiros e não financeiros para alcançar as missões e superar os desafios estruturais. Entre todas as missões, a Missão 5 destaca-se pela maior

convergência com o desenvolvimento deste projeto, pois sua meta aspiracional é a redução de CO₂ por valor adicionado da indústria, premissa que, apesar de também não estar especificada no documento, é fortemente aderente às biorrefinarias de microalgas acopladas à valoração de efluentes industriais.

2.6 PANORAMA DOS ESTUDOS ENVOLVENDO AS MICROALGAS EM ÁGUA PRODUZIDA NA LITERATURA

À luz da economia circular e das vantagens da fitorremediação, vários autores têm explorado o uso da AP como meio de cultivo para as microalgas. A Figura 11 mostra a evolução temporal do número de publicações sobre microalgas cultivadas em AP. Como critério de exclusão, considerou-se apenas manuscritos publicados em inglês, de modo que se encontrou 30 documentos no período de 2009 a 2021.

Figura 11 – Evolução temporal (2012-2021) das publicações envolvendo AP e microalgas



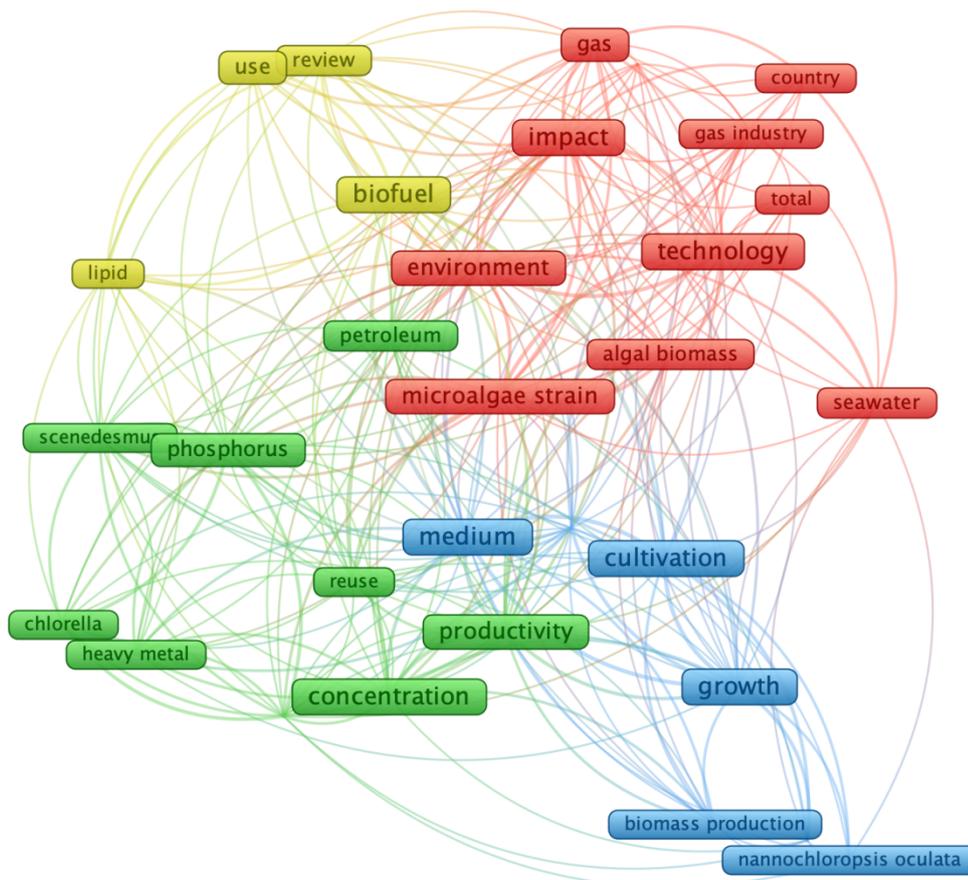
Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

O primeiro estudo sobre o tema foi publicado em 2009 e o segundo somente em 2012. Devido à lacuna de publicações entre 2009 e 2012, a Figura 11 mostra apenas os estudos publicados a partir de 2012. O número médio de publicações por ano aumentou de dois em 2012–2016, para quatro em 2016–2021, indicando que o número de estudos envolvendo

microalgas e AP dobrou nos últimos cinco anos. Embora a AP como meio de cultura para microalgas ainda seja um tema incipiente na literatura, o aumento constante do número de publicações desde 2015, atingindo um número máximo de cinco em 2019 e 2021, sugere uma tendência ascendente. Uma correlação positiva bastante forte (coeficiente = 0,8) pode ser observada para o número de publicações com o tempo.

Ademais, pode-se escrutinar o panorama bibliográfico na base de dados *Scopus* mediante a utilização do software *Vosviewer*. A Figura 12 mostra um número pequeno de palavras-chave relacionadas às BBMs quando comparado ao número de palavras-chave relacionadas ao trabalho intitulado de *Pesquisa de Microalgas no Mundo* por Garrido-Cardenas *et al.* (2018), indicando, portanto, o interesse nascente nesta área de pesquisa.

Figura 12 – As palavras-chave mais utilizadas e suas associações foram criadas no software *VOSviewer*, com base no critério mínimo de três repetições por palavra. Combinou-se as palavras “*microalgae*”, o operador “*and*” e “*produced water*”



Fonte: Pessôa *et al.* (2022)

Foram identificados quatro clusters (amarelo, vermelho, azul e verde), cujas palavras centrais são linhas de pesquisa que são exploradas detalhadamente ao longo desta revisão bibliográfica. No cluster amarelo, há um foco em lipídios para a produção de biocombustíveis, que tem sido o principal direcionamento relacionado à aplicação da biomassa microalgal cultivada neste efluente. O cluster vermelho enfatiza a identificação de gêneros e espécies de microalgas promissoras que podem ser cultivadas em AP, bem como as tecnologias que podem ser geradas para o mercado a partir das indústrias de gás e petróleo. O cluster azul explica o potencial da AP como meio de cultura para produção de biomassa, destacando a *Nannochloropsis oculata* como predominantes espécies que contribuem para isso. Por fim, o cluster verde acentua a produtividade, concentração e reaproveitamento, citando *Scenedesmus* e *Chlorella*, os outros dois gêneros mais pesquisados para cultivo em AP. Nota-se que, dos trinta artigos encontrados, três foram revisões e suas contribuições estão compiladas na Quadro 2.

Quadro 2 – Compilação das revisões de microalgas em AP

Referências	Conclusões	Limitações e perspectivas
Al-Ghouti <i>et al.</i> (2019)	Faz-se necessário pré-tratar a AP para obter um melhor crescimento microalgal	Os estudos precisam aproveitar o potencial biotecnológico da biomassa produzida
Sullivan Graham <i>et al.</i> (2017)	O cultivo de microalgas em AP, a depender da região, pode ser viável economicamente	Estudos precisam ser realizados para descobrir espécies mais tolerantes para AP, bem como faz-se necessário uma melhor discussão sobre as análises químicas e modelagem geoquímica
Rahman <i>et al.</i> (2020)	Pré-tratamento e diluição da AP, assim como a adição de nutrientes, é crucial para viabilizar o crescimento de microalgas em AP	Faz-se mister examinar a performance das algas pré-adaptadas em AP em termos do seu perfil de ácidos graxos, produção de lipídios e geração de biomassa.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Concernente ao Quadro 2, quatro janelas de pesquisa são elencadas como oportunidades de aprofundamento: (i) estudo de pré-tratamentos da AP que antecedam a biorremediação; (ii) tipos de suplementação do meio junto à AP; (iii) prospecção de gêneros de microalgas promissoras para o crescimento em AP e (iv) aproveitamento biotecnológico da biomassa resultante. Entretanto, para pré-tratar, suplementar e melhor identificar as espécies de algas

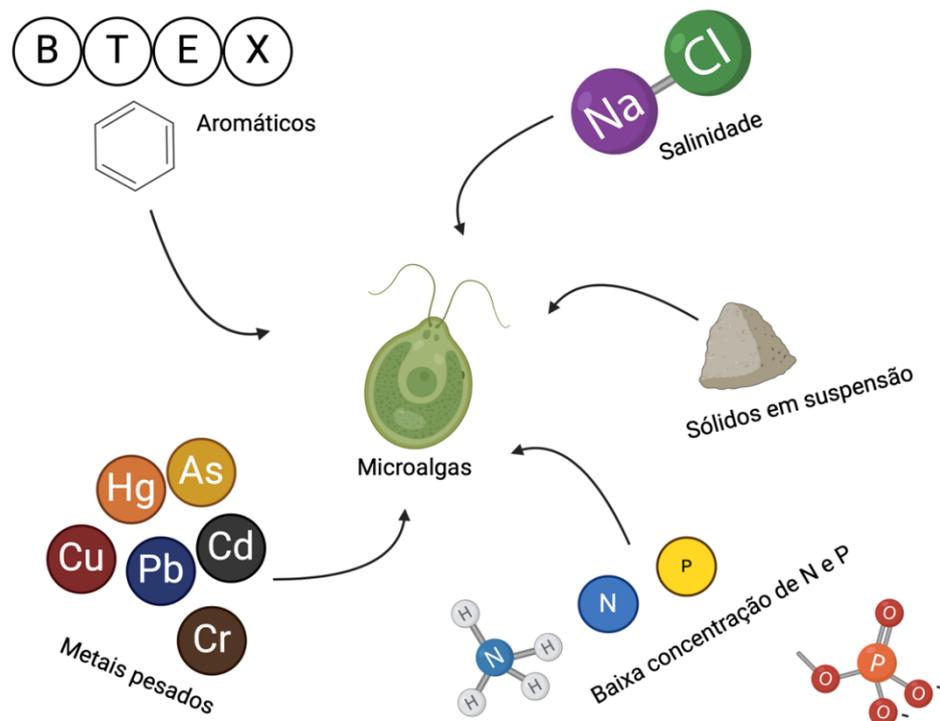
promissoras de um efluente, faz-se necessário conhecer de antemão as barreiras constituintes deste efluente.

2.6.1 Barreiras da água produzida para o cultivo de microalgas

O Quadro 3 apresenta uma compilação de estudos envolvendo o cultivo de microalgas em AP, mostrando as barreiras mais relevantes, as concentrações de AP utilizadas, a suplementação nutricional fornecida às microalgas e as principais espécies empregadas.

Embora a AP forneça micronutrientes relevantes, substitua a utilização de água doce nos cultivos e promova uma fonte alternativa de carbono orgânico, alguns entraves foram identificados como relevantes. Mediante a ilustração da Figura 13, pôde-se compilar algumas particularidades que aparecem pulverizadas nos artigos e são consideradas barreiras ao crescimento das microalgas: benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX), metais pesados, salinidade, turbidez e baixas concentrações de nitrogênio e fósforo (N e P).

Figura 13 – As principais barreiras identificadas para o crescimento das algas em AP



Fontes: Elaborado pelo autor (2022)

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(continua)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Silva <i>et al.</i> (2021)	AP	[NO ₃ ⁻ (<2,5 mg L ⁻¹); PO ₄ ³⁻ (<1 mg L ⁻¹); NaHCO ₃ ⁻ (83,4 ± 0.15 mg L ⁻¹)]	Salinidade (76 ± 0,18 g L ⁻¹), baixa concentração de nitrogênio e fósforo	<i>Chlorella vulgaris</i>
Gillard <i>et al.</i> (2021)	AP suplementada	AP [NO ₃ ⁻ (<0,5–20,5 mg L ⁻¹); PO ₄ ³⁻ (<0,3–4,6 mg L ⁻¹)] Suplementação [NO ₃ ⁻ 55 mg L ⁻¹]; PO ₄ ³⁻ 3,4 mg L ⁻¹]	-	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
Concas, Lutz e Turgut Dunford (2021)	AP	N-NO ₃ (0,1mg L ⁻¹); N-NH ₄ ⁺ (6,11–23,98 mg L ⁻¹); TP (0,2–0,29 mg L ⁻¹)	Salinidade, metais pesados, baixa concentração de macronutrientes e compostos orgânicos perniciosos	<i>Komvophoron sp.</i>
Marques <i>et al.</i> (2021)	AP (25%/50%/75%/100%) e água salina	AP [TN (17,85 mg L ⁻¹); TP (0,005 mg L ⁻¹)] Água salina [TN (1,28 mg L ⁻¹); TP (0,15 mg L ⁻¹)]	Baixa razão N:P devido à baixa concentração de nitrogênio e fósforo. Presença de desmulsificador	<i>Nannochloropsis oculata</i>
Rahman <i>et al.</i> (2021)	AP suplementada (5%/10%/20%/50%/100)	AP [N-NH ₃ (452 mg.L ⁻¹)] Suplementação - <i>Galdieria sulphuraria</i> [P-PO ₄ (66 mg L ⁻¹)] Suplementação - <i>Chlorella vulgaris</i> [N-NO ₃ (42 mg L ⁻¹); P-PO ₄ (54 mg L ⁻¹)]	Metais pesados	<i>Galdieria sulphuraria</i> <i>Chlorella vulgaris</i>

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(continua)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Parsy <i>et al.</i> (2020)	AP (10%/20%/30%/40%/50%) e digestato líquido (5%v/v)	AP [TOC (183 mg L ⁻¹); N-NH ₄ ⁺ (134 mg L ⁻¹)] Digestato [TOC: 630–1624 mg L ⁻¹ ; N-NH ₄ ⁺ (1275–1743 mg L ⁻¹); PO ₄ ³⁻ (0–22,2 mg L ⁻¹)]	AP [Salinidade (113,6 g L ⁻¹ ± 11,9 g L ⁻¹) e compostos inibidores (BTEX, hidrocarbonetos e metais pesados)] Digestato [Turbidez (360–502 NTU)]	<i>Nannochloropsis oculata</i>
Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020)	AP Artificial (25%/50%/75%/100%)	N-NO ₃ (2,544 mg L ⁻¹); N-NO ₂ (0,26 mg L ⁻¹); TN (29,74 mg.L ⁻¹); TP (0,22 mg L ⁻¹); ortofosfato (0,057 mg L ⁻¹); N-NH ₃ (26,572 mg L ⁻¹)	Inibição pelo aumento da concentração de AP justificada pelos constituintes tóxicos (metais, compostos orgânicos)	<i>Chlorella</i> sp.
Das <i>et al.</i> (2019)	AP	TOC (428 mg L ⁻¹); TN (32,43 mg L ⁻¹); N-NO ₃ (0,42 mg L ⁻¹); TP (0,17 mg L ⁻¹)	Baixa concentração de fósforo; contaminantes orgânicos (especialmente ácidos naftênicos)	<i>Chlorella</i> sp. (QUCCCM 10)
				<i>Scenedesmus</i> sp. (QUCCCM 63)
				<i>Monoraphidium</i> sp. (QUCCCM 1)
				<i>Tetraselmis</i> sp. (QUCCCM 8)
				<i>Picochlorum</i> sp. (QUCCCM 130)

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(continua)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Das <i>et al.</i> (2019)	AP suplementada com N e P	N-urea (53 mg L ⁻¹); P-Na ₂ HPO ₄ (4 mg L ⁻¹) [supplementation]	Contaminantes orgânicos (especialmente ácidos naftênicos)	<i>Lyptolyngbya</i> sp. (QUCCCM56)
				<i>Chlorella</i> sp. (QUCCCM 10)
				<i>Scenedesmus</i> sp. (QUCCCM 63)
				<i>Monoraphidium</i> sp. (QUCCCM 1)
				<i>Tetraselmis</i> sp. (QUCCCM 8)
				<i>Picochlorum</i> sp. (QUCCCM 130)
				<i>Lyptolyngbya</i> sp. (QUCCCM 56)
Hopkins <i>et al.</i> (2019)	AP com adição de NaCl e nutrientes	AP [N-NH ₄ (0,1mg L ⁻¹)] Supplementation [N-NH ₄ (13–70 mg L ⁻¹); P-PO ₄ (1,7–8 mg L ⁻¹); N-NO ₃ (13 mg L ⁻¹)]	Salinidade, NH ₃ , alto pH	<i>Cyanobacterium aponinum</i>
				<i>Parachlorella kessleri</i>

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(continua)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Lutzu e Dunford (2019)	AP	N-NO ₃ (0,2 mg L ⁻¹); N-NH ₄ ⁺ (86 mg L ⁻¹); fosfato (0,01 mg L ⁻¹)	Baixa disponibilidade de nutrientes	<i>Aphanocapsa</i> sp. (UTEX SP23)
				<i>Geitlerinema amphibium</i> (UTEX SP27)
				<i>Geitlerinema carotinosum</i> (UTEX SP28)
				<i>Komvophoron</i> sp. (UTEX SP33)
				<i>Phormidium kuetzingianum</i> (UTEX SP38)
				<i>Pseudoanabaena</i> sp. (UTEX SP46-48)
				<i>Botryococcus braunii</i> (UTEX LB572)
				<i>Aphanothece</i> sp. (CCMP2555)
				<i>Picochlorum oklahomensis</i> (CCMP2329)
Ammar; Khadim; Mohamed (2018)	AP (10%/25%/50%)	Nitrogênio amoniacal total (31 mg L ⁻¹)	Toxicidade, salinidade, metais, compostos orgânicos	<i>Nannochloropsis oculata</i>
				<i>Isochrysis galbana</i>

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(continua)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Pereira <i>et al.</i> (2017)	Água Residual de Petróleo pré-trada	N-NO ₃ (51,1 mg L ⁻¹); P-PO ₄ ³⁻ (3,16 mg L ⁻¹); NH ₃ (3,75 mg L ⁻¹)	Turbidez e auto-sombreamento	<i>Scenedesmus obliquus</i> [BR003]
Lutzu e Dunford (2019)	AP (50%/60%/75%/100%)	TN (35,8 ppm); TOC (389,1 ppm); TP (277,8 ppb)	Salinidade, deficiência de nutrientes, metais pesados e compostos aromáticos monocíclicos como BTEX	<i>Dictyosphaerium</i> sp.
	AP filtrada (50%/60%/75%/100%)	TN (27.6 ppm); TOC (317 ppm); TP (180 ppb)		<i>Chlorella</i> sp.
				<i>Scenedesmus</i> sp.
				<i>Neochloris</i> sp.
				<i>Monoraphidium</i> sp.
Madadi <i>et al.</i> (2016)	Efluente Petroquímico (25%/50%/75%/100%) e surfactantes	TN (4,4–18 mg L ⁻¹); TP (2,5–3,7 mg L ⁻¹)		<i>Chlorella vulgaris</i>
Madadi <i>et al.</i> (2016)	AP e fertilizantes	NH ₃ (0,3–0,6 mg L ⁻¹); NO ₃ (0,2–1 mg L ⁻¹); PO ₄ (<0,2 mg L ⁻¹)	-	<i>Cyanobacterium aponinum</i> (CA WP7(1))
Ranjbar <i>et al.</i> (2015)	AP	TOC (3.4–65.5 mg L ⁻¹); N-NO ₂ (0.23–0.95 mg L ⁻¹); TKN (3.45–10.81 mg L ⁻¹); P-PO ₄ ³⁻ (2.05–5.01 mg L ⁻¹)	NaCl (52,7 - 63,3 g L ⁻¹) e deficiência de nutrientes	<i>Dunaliella salina</i> CCAP 19/18

Quadro 3 – Sistematização da literatura em relação às barreiras, aos meios de cultivo e aos tipos de microalgas

(conclusão)

Referência	Meio de cultivo	Nutrientes	Barreiras	Microalgas
Winckelmann <i>et al.</i> (2015)	AP enriquecida com nutrientes	NH ₃ (0.3–0.6 mg L ⁻¹); NO ₃ (0.2–1 mg L ⁻¹); PO ₄ (<0.2 mg L ⁻¹)	-	<i>Scenedesmus</i> sp. MKB
Wood <i>et al.</i> (2015)	AP suplementada	NaNO ₃ (3 g L ⁻¹); K ₂ HPO ₄ (0.5 g L ⁻¹)		<i>Nodosilinea</i> sp.
				<i>Nodosilinea epilithica</i> str. Kovacik
				<i>Nodosilinea</i> sp. Rehakova 1960/20
				<i>Plectonema terebrans</i> CCAP 1463/4
				<i>Leptolyngbya</i> sp. PCC 7104
				<i>Oscillatoria acuminata</i> PCC 6304
Arriada e Abreu (2014)	AP (50%/100%)	Nitrogênio amoniacal total (1.11 mg L ⁻¹)	Estresse fisiológico, excesso de metais e outros componentes orgânicos	<i>Nannochloropsis oculata</i>
Godfrey (2012)	AP	N-NO ₃ (29.4 mg L ⁻¹); Fósforo (6.24 mg L ⁻¹)	Salinidade	<i>Amphora coffeaformis</i> (UTEX 2039)
				<i>Phaeodactylum tricornutum</i> (UTEX 640)
				<i>Chaetoceros gracilis</i> (UTEX LB 2658)
Neal <i>et al.</i> (2012)	AP suplementada	NaNO ₃ (0.75 g L ⁻¹); NaH ₂ PO ₄ (0.03 g L ⁻¹)	Formação de precipitado, presença de contaminantes e crescimento lento	<i>Nannochloropsis salina</i> 1776

TOC: Carbono orgânico total; TN: Total nitrogênio; TP: Total fósforo; N: nitrogênio e P: fósforo.

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Abdul Hakim (2016) cultivou cinco microalgas selecionadas em quatro diferentes proporções de AP: 50%, 60%, 75% e 100% e obteve melhores resultados à medida que a concentração do efluente diminuiu. Sobre este experimento, o autor apontou a salinidade da AP e a escassez de nutrientes como principais empecilhos ao crescimento.

A salinidade da AP pode variar de poucos mg L⁻¹ litro até aproximadamente 300 g L⁻¹, dependendo de sua origem (Al-Ghouti *et al.*, 2019), o que pode representar um montante muito acima do presente na água do mar, por volta de 35 g L⁻¹ (Lourenço, 2006). Para avaliar o efeito da salinidade da AP no cultivo das microalgas, Hopkins *et al.* (2019) adicionaram concentrações de NaCl, que variaram entre 15 g L⁻¹ e 150 g L⁻¹. Uma redução de aproximadamente 71% foi constatada para o crescimento a 75 g L⁻¹ de NaCl, enquanto concentrações acima de 105 g L⁻¹ sucederam em taxas irrisórias.

Parsy *et al.* (2020) reportaram um valor teto relativamente próximo (i.e., 60 g L⁻¹), informando que valores acima deste podem limitar o crescimento da *Nannochloropsis oculata*, haja vista o que observaram para concentrações acima de 40% de AP. Sabe-se que os sais dissolvidos podem exercer um gradiente de pressão osmótica na membrana celular, desde que a concentração do meio seja maior do que a concentração no interior das mesmas (Lourenço, 2006). Com efeito, esse estresse causado às microalgas induz diversos fenômenos, como a produção de EPS e solutos osmorregulatórios, acumulação lipídica e redução na atividade fotossintética (Shetty; Gitau; Maróti, 2019). O potencial energético, geralmente direcionado ao crescimento das microalgas, é desviado, a fim de adaptar as microalgas às condições severas desses ambientes salinos. Portanto, alta de salinidade pode ativar a rota bioquímica da concentração de lipídios e por conseguinte afetar o perfil da composição dos ácidos graxos.

No que diz respeito aos efeitos deletérios causados por BTEX, cabe destacar que Abdul Hakim (2016) e Parsy *et al.* (2020) foram os únicos autores que aludiram à inibição no cultivo a esses constituintes. Apesar disso, esses trabalhos não investigaram os mecanismos pelos quais a inibição ocorre. Peng *et al.* (2015) demonstraram que concentrações de BTEX entre 50 e 5000 µM desencadearam alterações morfológicas na microalga *Euglena gracilis*, como alteração no formato das células e decrescimento na concentração de clorofila, estando esse último correlacionado com a inibição do crescimento celular. De acordo com Paixão *et al.* (2007), altas concentrações de BTEX em formulações de gasolina inibiram o crescimento da microalga *Tetraselmis chuii* em 50%; no entanto, formulações concentradas em compostos aromáticos de 9 a 11 átomos de carbono inibiram esse crescimento em concentrações bem menores. Considerando a

toxicidade causada pelos compostos aromáticos (e.g., BTEX, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs)), estes podem ser um problema que não está sendo suficientemente reportado.

Por outro lado, a alta volatilidade dos compostos BTEX é um fator que não deve ser negligenciado. Abdul Hakim (2016) destacou que a evaporação pode ter sido um dos fatores para uma concentração tão baixa de BTEX após os seus experimentos; Paixão *et al.* (2007) justificaram a baixa toxicidade de formulações de gasolina ricas em BTEX, comparadas às formulações com hidrocarbonetos pesados, pela alta volatilidade dos BTEX. Peng *et al.* (2015) realizaram ensaios no período de 24 hora para evitar perdas de BTEX, onde, segundo os pesquisadores, há um padrão de toxicidade às algas (i.e., xilenos > etilbenzeno > tolueno > benzeno). Portanto, não é possível chegar a uma conclusão definitiva acerca dos efeitos de BTEX no cultivo de microalgas em AP, haja vista a carência de dados disponíveis.

No que tange aos metais pesados presentes na AP, estes são comumente citados como poluentes que obstaculizam o desenvolvimento da biomassa, até mesmo levando à morte celular. Ammar, Khadim e Mohamed, (2018) relataram que, para altas concentrações de AP, houve floculação das microalgas ao fundo dos reatores, associando isso à presença de íons metálicos que neutralizaram a superfície das células. Como consequência, esse fenômeno pode gerar imprecisões para quantificar o crescimento das microalgas via espectrofotometria. Abdul Hakim (2016) demonstrou que as microalgas (*Oorococcus sp*, *Chlorococcum sp*, *Oocystis sp*, e *Chlamydomonas sp*), foram incapazes de se multiplicar na AP em razão da presença de metais pesados e BTEX. Metais pesados podem inibir o crescimento de microalgas de diferentes formas, dependendo da espécie de microalga, do metal em questão e das condições de cultivo (Arunakumara; Zhang, 2008; Suresh Kumar *et al.*, 2015). Recentemente, Rahman *et al.* (2021) reportaram que em baixas diluições da AP o crescimento das *Chlorella vulgaris* e *Galdieria sulfuraria* foram comprometidos provavelmente em função da presença dos metais pesados, representados pela alta concentração de TDS (total de sólidos dissolvidos). Apesar de anunciados como um problema no crescimento das microalgas, os metais pesados presentes na AP não foram estudados a fundo a fim de se entender os mecanismos pelos quais ocorre a inibição. Em vista disso, observa-se a necessidade de estudos dos metais pesados na inibição do crescimento de microalgas em AP, considerando espécies de microalgas, concentração de metais e condições de cultivo.

Outro inconveniente ao cultivo de microalgas em AP é a turbidez. Esta barreira consiste na presença de sólidos suspensos totais (SST), como argila, lodo, matéria orgânica e inorgânica dividida (Mohammed; Shakir, 2018). A AP pode conter concentrações de SST entre $1,2 \text{ mg L}^{-1}$ e 5484 mg L^{-1} , dependendo da origem (Al-Ghouti *et al.*, 2019), ocasionando um líquido turvo que impede a absorção de luz pelas microalgas. Pereira *et al.* (2017) avaliaram a curva de crescimento da *Scenedesmus* cultivada em AP nas absorvâncias de 680 nm e 750 nm e observaram um comportamento atípico em 750 nm, concluindo que não se tratava de algas, mas sim de prováveis partículas opacas em suspensão que difratavam a luz. Para que as microalgas atinjam a máxima taxa de crescimento, faz-se necessário a incidência de uma intensidade de luz específica chamada nível de saturação, de modo que quanto mais a incidência de luz aproximar-se desse nível de saturação, as etapas de síntese de RNA e proteínas serão mais rápidas, aumentando o número das microalgas (Moreno-García *et al.*, 2020).

Portanto, é possível inferir que a turbidez da AP desempenha um papel limitador à taxa de crescimento das microalgas. Esse efeito justifica a cautela de Parsy *et al.* (2020) na diluição do digestato líquido (5% v/v) para suplementar a AP, a fim de prevenir a obstrução de luz pelo meio de cultivo. Em suma, o efeito da turbidez da AP nas microalgas foi pouco discutido, provavelmente em virtude dos pré-tratamentos realizados na maioria dos trabalhos cujo enfoque será abordado a posteriori.

Com base nas barreiras discutidas, deduz-se que a AP pode ser uma alternativa inviável em concentrações elevadas devido à sinergia e significância das cinco barreiras. Além de Abdul Hakim (2016), outros autores constataram que quanto maior a porcentagem de AP no meio de cultivo, menor a taxa de crescimento das microalgas. Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020) Marques *et al.* (2021) e mostraram graficamente o efeito negativo da concentração de AP no crescimento de *Nannochloropsis oculata* e *Chlorella sp.*, respectivamente. Para concentrações de AP acima de 50%, foram obtidas curvas de crescimento predominantemente insustentáveis. Parsy *et al.* (2020) também não testaram as condições de cultivo acima de 30% para AP suplementada com digestato, destacando que a barreira da salinidade tornar-se-ia significativa, inibindo o crescimento. Nota-se que a biorremediação desempenhada pelas microalgas é geralmente comprometida para esse efluente bruto e em concentrações elevadas. Apesar dessa tendência, algumas exceções foram identificadas. Por exemplo, Madadi *et al.* (2016) cultivaram *Chlorella vulgaris* em AP pura e diluída, e alcançaram

curvas de crescimento mais robustas em 100% de AP, em comparação com as curvas delineadas em 50% e 75% de AP. Ademais, Arriada e Abreu (2014) lograram resultados positivos através da pré-aclimação de *Nannochloropsis oculata* em AP, levando a velocidades de crescimento 83% e 50% maiores para 50% e 100% AP, respectivamente, em comparação com a microalga não adaptada. Contudo, nota-se que a AP trabalhada por eles já viera pré-tratada e com baixa salinidade, o que pode ajudar a explicar ditos resultados. Por outro lado, não se informou a concentração de fósforo, a concentração de sólidos em suspensão e tampouco a parcela correspondente aos aromáticos monocíclicos. Um aspecto que poderia contribuir para um melhor entendimento da inibição de forma geral seria a padronização das análises de composição da AP, isto é, que os autores tentassem seguir um padrão ao relatar a concentração dos compostos, sobretudo dessas cinco barreiras. Sugere-se as barreiras aqui propostas e compiladas, previamente ilustradas na Figura 13, como uma possibilidade de padronização.

2.6.2 Suplementação da água produzida

Além dos constituintes tóxicos presentes no AP, vários autores alertam sobre a possível falta de macronutrientes essenciais que impedem o crescimento de microalgas (Tabela 3). Marques *et al.* (2021) associaram a baixa razão nitrogênio-fósforo (N:P) de AP (3,4:1), comparada àquela adequada para o crescimento de microalgas mixotrópicas (9:1), com a baixa produtividade de compostos de alto valor agregado do cultivo de microalgas. Lutz e Dunford (2019) testaram 11 espécies de microalgas em AP, dentro das classes *Cyanophyceae* e *Chlorophyceae*, atribuindo as baixas taxas de crescimento de algas à baixa disponibilidade de nitrogênio e fósforo (ou seja, 0,2 mg L⁻¹ e 0,01 mg L⁻¹, respectivamente).

Diante dos desafios do cultivo de microalgas em AP, alguns autores optaram por complementar a AP com meio sintético, adaptando gradativamente a microalga ao efluente. Abdul Hakim (2016) comparou os rendimentos de biomassa obtidos com o cultivo de microalgas em AP e em um meio de cultura sintético padrão (BG-11) e sugeriu que a densidade de biomassa de microalgas cultivadas em AP poderia ser aumentada através da suplementação com macronutrientes. Das *et al.* (2019) também sugeriram que

a suplementação de AP com N e P pode melhorar a economia geral do processo de produção.

Embora útil para entender a influência de fatores específicos, o meio sintético representa um custo não escalável; ou seja, no cultivo de microalgas em larga escala, grandes quantidades desses substratos seriam economicamente inviáveis. Por esta razão, Parsy *et al.* (2020) e Racharacks. Ge e Li (2015) foram pioneiros na suplementação de água de gás de xisto e AP, respectivamente, com um meio não sintético. Essa iniciativa é interessante, principalmente considerando a perspectiva da economia circular, pois abre uma janela de oportunidades de pesquisa com novos efluentes como fontes econômicas de N e P, principalmente aqueles alocados em regiões próximas às extrações de petróleo para reduzir custos logísticos.

Além de atenuar a barreira de baixas concentrações de N e P, a suplementação com outros efluentes tem papel relevante na diluição do AP e, portanto, na redução da salinidade, cuja viabilização poderia ser uma alternativa aos métodos onerosos de dessalinização existentes. Tal suplementação alternativa é uma prática sustentável que pode ser uma concomitante solução energética e ecológica e deve ser melhor investigada. Em síntese, tendo em vista as outras quatro barreiras elencadas acima na Água Produzida, Das *et al.* (2019); Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif, (2020) e Neal *et al.* (2012) apontam a necessidade crucial de um pré-tratamento para uma melhor penetração de luz e, conseqüentemente, maior produção de biomassa. A posteriori, os benefícios, desafios e alguns efluentes em potencial serão discutidos em detalhe, uma vez que antes de suplementar o cultivo é imperioso pré-tratar a água produzida.

2.6.3 Pré-tratamentos da AP para o cultivo de microalgas

O pré-tratamento da AP é uma etapa comum na maioria dos estudos prospectados, principalmente envolvendo processos de filtração e esterilização. A importância da filtração decorre da necessidade de remover sólidos em suspensão e dispersos, que, conforme supracitado, aumentam os níveis de turbidez e podem atuar como uma barreira física, impedindo a absorção de luz pelas microalgas. A esterilização garante que apenas as microalgas selecionadas sejam isoladamente estudadas, pois a contaminação dos meios de cultura pode gerar competição de outros microrganismos por substratos, levando à imprecisão nos resultados da pesquisa e comprometendo a confiabilidade da ação das

microalgas analisadas. O Quadro 4 apresenta uma compilação dos métodos empregados em diferentes estudos para o pré-tratamento.

Quadro 4 – Compilação e análise dos tipos de pré-tratamentos realizados na água produzida presentes na literatura

REFERÊNCIA	PRÉ-TRATAMENTO	EFICÁCIA DE REMOÇÃO
Silva <i>et al.</i> (2021)	-	-
Concas, Lutz e Turgut Dunford (2021)	Filtração e esterilização (autoclave)	N-10%; C-5.98%, S-6.89%; BR-8.04%; BI-11.14%
Gillard <i>et al.</i> (2021)	Filtração e esterilização (autoclave)	NI
Rahman <i>et al.</i> (2021)	-	-
Marques <i>et al.</i> (2021)	-	-
Jaén-Gil <i>et al.</i> (2020)	Filtração e esterilização (autoclave)	NI
Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020)	-	-
Parsy <i>et al.</i> (2020)	Membrana (0,45 µm)	N-23%; P-35%; TOC -19%; B -23%; T-16%; ET-14%; X-9%
Al-Ghouti <i>et al.</i> (2019)	NaOH and centrifugação	TOC-40.6%; TN-38.2%; N-63.5%, TP-19%
Das <i>et al.</i> (2019)	Membrana (0,45 µm)	NI
Hopkins <i>et al.</i> (2019)	Filtração e esterilização	NI
Lutz e Dunford (2019)	Esterilização (autoclave)	NI
Calderón-Delgado, Mora-Solarte e Velasco-Santamaria (2019)	-	-
Ammar, Khadim e Mohamed (2018)	-	-
Pereira <i>et al.</i> (2017)	Membrana (0,45 µm)	TN-23%; TP-35%; TOC-19%; B-23%; T-16%; ET-8%; X-9%
Abdul Hakim (2016)	Esterilização	NI
Madadi <i>et al.</i> (2016)	-	-
Winckelmann <i>et al.</i> (2016)	-	-
Woody <i>et al.</i> (2015)	-	-
Winckelmann <i>et al.</i> (2015)	Esterilização (autoclave)	NI
Ranjbar <i>et al.</i> (2015)	-	-
Arriada e Abreu (2014)	-	-
Neal <i>et al.</i> (2012)	Membrana (0.22 µm)	NI
Godfrey (2012)	Centrifugação, autoclave, CA	P-62%; S-28%; N-34%

NI: Não identificado; N: Nitrogênio; P: Fósforo; TOC: Carbono orgânico total ; TN: Nitrogênio total; TP: Fósforo total; B: Benzeno; T: Tolueno ; ET: Etilbenzeno; X: Xileno; S: Sulfato; BR: Boro; BI: Bicarbonato; TA: Alcalinidade total; SI: Sílica; Cu: Cobre; F: Fluor; Fe: Ferro; Mg: Magnésio; CA: Carvão ativado

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

De acordo com o exposto, observa-se que cerca de 61% dos trabalhos levaram a cabo algum tipo de pré-tratamento da AP; no entanto, apenas 38,5% explicitaram a eficácia do mesmo. Esse percentual, por sua vez, revela uma possível lacuna a ser explorada em trabalhos futuros, haja vista que, para lograr uma maior concentração de biomassa e direcionar as microalgas para as rotas bioquímicas de interesse, faz-se mister reconhecer as concentrações de macronutrientes (C,N,P) alimentadas, bem como reduzir alguns compostos inconvenientes (i.e., sólidos em suspensão, BTEX). Tornar-se-á útil para a comunidade científica ter os dados da composição da água antes e depois do pré-tratamento, pois assim será possível rigorosamente distinguir o papel da biorremediação do papel do pré-tratamento realizado, evitando conclusões superestimadas com relação ao tratamento bioquímico desempenhado pelos microrganismos.

Dentre os pré-tratamentos realizados pelos pesquisadores (e.g., centrifugação, filtração por membrana, esterilização e filtração via o uso do carvão ativado), a esterilização se destaca em maior quantidade; seguida da filtração em membrana e, em mínima preferência, o carvão ativado. Sob a ótica de uma transposição de escala, o pré-tratamento de uma matéria-prima é uma etapa crucial para a maioria dos processos químicos e bioquímicos industriais, de modo que três aspectos basilares devem ser considerados: (i) viabilidade econômica (ônus para escalar), (ii) eficiência de processo (remoção de hidrocarbonetos e sólidos em suspensão) e (iii) sustentabilidade (origem, reciclagem). Passando as alternativas de pré-tratamento existentes pelo crivo deste tripé, faz-se possível eleger aquele mais propício para o processo desejado.

No que tange à filtração por membrana, foram encontrados estudos com dois topos de tamanho de poros (0,22 e 0,45 μm). Embora seja um método relativamente simples e prático, do ponto de vista de aumento de escala, precisam-se de mais estudos para entender qual seria o diâmetro de poro mais adequado para este efluente, bem como a influência do consumo energético da bomba de circulação na sustentabilidade global. Neal *et al.* (2012) não reportaram os valores de eficiência do pré-tratamento com a membrana de 0,22 μm . Em contrapartida, Abdul Hakim (2016) e Al-Ghouti *et al.* (2019), que trabalharam com a de 0,45 μm , chegaram a valores praticamente iguais de remoção dos constituintes da AP, exceto para a remoção do etilbenzeno que foi superior no primeiro estudo. Por outro lado, ao analisar a centrifugação, conclui-se que é um método dispendioso para uma escala comercial (Rahman, 2020) em função do alto consumo de energia elétrica o que não o enquadraria nonexo água-energia-alimentos, a despeito da sua boa eficiência de remoção de hidrocarbonetos perniciosos. Ao comparar o carvão ativado com a centrifugação, Godfrey (2012) obteve resultados melhores para o carvão ativado, concluindo que se trata de um pré-tratamento promissor para a produção em larga

escala de biodiesel de terceira geração. Contudo, a pesquisadora ressalta que os efeitos para uma remoção indesejada dos macronutrientes-chave (i.e, N e P) são incertos. Al-Ghouti *et al.* (2019) salientam que a adsorção é um método mais factível para o pré-tratamento da AP; entretanto, a instalação de sistemas complexos de adsorção e a manutenção dos mesmos tornaria o processo mais dispendioso. Para contornar este inconveniente, os autores salientam que o carvão ativado pode tornar o processo mais econômico e competitivo, uma vez que o carvão ativado já é um produto amplamente comercializável e preferido para a descontaminação de águas devido à sua simplicidade, alta capacidade de adsorção pela sua estrutura microporosa e extensa área de superfície. Desse modo, por apenas estar presente em um trabalho experimental, o carvão ativado ainda está subutilizado e pode ser empregado para análise da eficácia do pré-tratamento, pois espera-se que seja capaz de atenuar três barreiras simultaneamente (i.e., BTEX, turbidez, metais pesados). A geometria em pellets pode ser preferível para evitar a adsorção significativa de nutrientes de interesse, bem como por fornecer menores perdas de carga ao se pensar em sistemas de adsorção aplicáveis numa escala maior.

Por fim, a despeito de ter sido empregada em vários casos, o método de esterilização não apresenta resultados comparáveis. Ranjbar *et al.* (2015) realizaram um estudo com duas APs de fontes diferentes, onde ambas as amostras foram testadas para o cultivo de algas, com e sem esterilização. Enquanto na primeira amostra houve inibição do crescimento da microalga, na segunda amostra, advinda de outro poço, não houve alteração significativa, senão uma maior etapa de aclimação. Os autores concluíram que provavelmente a primeira amostra apresentava um microrganismo inibidor competindo com os substratos ou, alternativamente, compostos químicos inibidores que poderiam ser inativados mediante a esterilização. Eles concluíram que a esterilização pode resultar numa volatilização ou decomposição dos contaminantes orgânicos (e.g glutaraldeído), ademais de precipitar os metais tóxicos. A esterilização via autoclave pode permitir uma maior volatilização dos aromáticos monocíclicos (BTEX), assim como a precipitação de sólidos em suspensão. Outrossim, visando o aumento de escala, essa operação poderia ser inviável, levando em consideração o alto custo e demanda energética. Se por um lado outros métodos de esterilização podem ser mais bem estudados, como, por exemplo, a pasteurização da AP realizada por Ramos, Almeida e Chinalia (2022) a uma temperatura de 60 °C por 30 minutos; por outro lado, nota-se também uma tendência crescente da comunidade científica para a valorização do consórcio de microalgas-bactéria para biorremediação das águas residuárias.

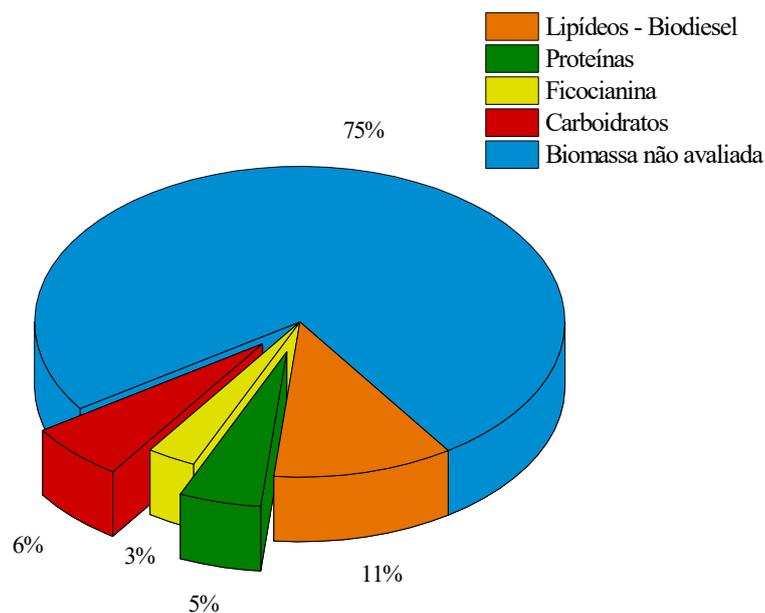
A utilização do consórcio implicaria numa mimetização de um fenômeno relativamente natural; pois, conforme salienta Chan *et al.* (2022), na natureza as microalgas interagem com

as bactérias visando fornecer um habitat para elas, ao passo que as bactérias colaboram com a síntese de produtos que auxiliam o crescimento das microalgas numa relação simbiótica. Esta é uma relação complexa e intrincada cujo benefícios são, a saber: (i) complementação das reações de metabolismo através da síntese de enzimas capazes de hidrolisar macromoléculas; (ii) intercâmbio de gases pela produção de CO₂ por parte das bactérias e produção de O₂ pelas microalgas, diminuindo a necessidade de aeração; (iii) as bactérias podem aumentar a eficiência da colheita da biomassa algal mediante a secreção de exopolímeros (EPS); (iv) as bactérias podem consumir as células mortas das microalgas presentes no meio (Chan *et al.*, 2022; Fallahi *et al.*, 2021). Essas características são interessantes na medida em que podem possibilitar o trabalho com maiores concentrações de AP, sendo uma lacuna a ser explorada em trabalhos futuros. Ressalta-se, contudo, que há algumas variáveis-chave que podem influir na diferença entre uma relação de sinergia à competição (e.g concentração de amônio, razão C/N, intensidade luminosa, entre outros) (Fallahi *et al.*, 2021) e que a escolha das espécies de bactérias e microalgas são relevantes para o êxito do consórcio.

2.6.4 Bioprodutos, microalgas e escala de produção

A Figura 14 ilustra o perfil de compostos e produtos relacionados ao cultivo de microalgas em água produzida. Apesar da versatilidade metabólica das microalgas, a maioria dos estudos (75%) não aproveitou o valor biotecnológico da biomassa resultante para diferentes bioprodutos de relevância industrial e de mercado. O enfoque tem sido, até o presente momento, predominantemente a biorremediação o que retrata, portanto, um passo a ser realizado para os estudos futuros.

Figura 14 – Perfil do aproveitamento biotecnológico da biomassa resultante das microalgas em AP



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Os lipídios para a produção de biodiesel e os carboidratos para a provável produção de bioetanol são destacados. Para o biodiesel, *Chlorella* sp. e *Dunaliella* salina foram reportadas através dos estudos de Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020) e Ranjbar *et al* (2015), respectivamente, onde o trabalho dos primeiros expôs uma abrangência maior, associando qualitativamente o perfil de ácidos graxos com cinco parâmetros-chave para a qualidade do biodiesel: número de cetano, viscosidade cinemática, estabilidade oxidativa, teor de éster metílicos e poder calorífico. Os pesquisadores relataram que o biodiesel produzido em 100% de água produzida apresentaria todos os cinco parâmetros de qualidade em um nível melhor em comparação ao biodiesel produzido pela microalga cultivada em meio padrão. Todavia, o maior crescimento específico e produtividade de biomassa foi obtido quando a concentração de água produzida esteve em 25%, apresentando, ademais, a maior taxa de lipídios de 23,33% em peso seco. Em contrapartida, observa-se que o estudo realizado com a *Dunaliella salina* logrou taxas mais substanciais de acúmulo de lipídios, variando de 35% até 62% em peso seco. A diferença considerável entre o acúmulo de lipídios nesses estudos pode ser entendida por dois vieses: (i) baixa concentração de fósforo da água produzida atrelada à ausência de suplementação do mesmo e (ii) diferença da natureza das microalgas.

Uma outra aplicação em potencial para as microalgas cultivadas em AP refere-se aos inibidores de corrosão verde. Khanra *et al.* (2018) e analogamente Oliveira *et al.* (2021) estudaram esse efeito a partir dos ácidos graxos C18:3, C18:2, e C16:0 provenientes do óleo

das microalgas, utilizando, respectivamente, as espécies *Scenedesmus* sp. e *Chlorella sorokiniana*. Além desses dois gêneros serem presentes e destacados nos trabalhos avaliados desta revisão bibliográfica (vide Tabela 3), os estudos desenvolvidos por Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2019), Ranjbar *et al.* (2015) relataram que os ácidos graxos C18:3, C18:2, e C16:0 são produzidos em quantidades apreciáveis para as microalgas quando cultivadas em AP. Pensando num contexto de biorrefinaria, a síntese de inibidores de corrosão advindos das microalgas ajudaria a potencialmente substituir os inibidores sintéticos que contêm metais pesados, cromatos, fosfatos e outros compostos tóxicos, que são recalcitrantes e podem causar eutrofização (Negm; Yousef; Tawfik, 2013).

Embora a biomassa seja rica em pigmentos, à exceção de Wood *et al.* (2015) com a síntese de ficocianina, não foi encontrado nenhum trabalho explorando o potencial de pigmentos comerciais da biomassa em AP, assim como nenhum trabalho abordando os (EPS) sintetizados, inibidores de corrosão verde, ou tampouco os polihidroxialcanoatos (PHA). Outrossim, por ser um meio quimicamente abundante em cátions, pode-se esperar uma biomassa com acúmulo de nanopartículas metálicas. A incipiente exploração da biomassa para cultivos em AP está em convergência com a diminuta escala de produção, isto é, os estudos estão majoritariamente ainda em escala de laboratório, conforme elucida o Quadro 5.

Quadro 5 – Escala de produção, principais gêneros e variáveis de processo para o cultivo de microalgas em AP

Referência	Gênero	Temperatura (°C)	Fotoperíodo (L/D, h)	Reator (volume)
Silva <i>et al.</i> (2021)	<i>Chlorella</i>	28 °C	12/12	Erlenmeyer (2 L)
Rahman <i>et al.</i> (2021)		28 °C	16/8	Erlenmeyer (500 mL)
Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020)		25–28 °C	12/12	Reator cilíndrico (8L)
Calderón-Delgado, Mora-Solarte e Velasco-Santamaría (2019)		20 °C	–	Frasco de vidro (3 L)
Madadi <i>et al.</i> (2016)		25 °C	–	Erlenmeyer (250 mL)
Das <i>et al.</i> (2019)		25 ± 2 °C	–	Frasco de vidro (1 L)
Abdul Hakim (2016)		25 °C	12/12	Frasco de vidro (100 mL)
Das <i>et al.</i> (2019)		<i>Scenedesmus</i>	25 °C	–
Pereira <i>et al.</i> (2017)	25 ± 0.1 °C		12/12	Tanque de poliestireno (20 L)
Winckelman <i>et al.</i> (2015)	29.9–41.9 °C		12/12	Lagoa aberta (600 L)
Abdul Hakim (2016)	25 °C		12/12	Frasco de vidro (100 mL)
Parsy <i>et al.</i> (2020)	<i>Nannochloropsis</i>	25 °C	14/10	Glass bottle (500 mL)
Ammar, Khadim e Mohamed (2018)		21 ± 1 °C	18/6	Frasco de vidro (400 mL)
Arriada e Abreu (2014)		25 ± 1 °C	12/12	- (1 L)
Marques <i>et al.</i> (2021)		21 ± 0.9 °C	12/12	Reator cilíndrico (2,5 L)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Os três principais gêneros demonstrados acima estão em consonância com o que foi exposto via os clusters de palavras-chave, Figura 12, bem como o compilado do Quadro 3. Os gêneros *Chlorella* e a *Scenedesmus* são de água doce, enquanto a *Nannochloropsis* advém do mar. A morfologia do gênero, em especial o diâmetro da célula, desempenha um papel relevante na biorremediação de efluentes, conforme explicita Calderón-Delgado, Mora-Solarte e Velasco-Santamaría, (2019) ao cultivar a *Chlorella vulgaris* em AP. Os pesquisadores observaram uma redução do diâmetro celular final da *Chlorella vulgaris* quando exposta à diferentes concentrações (25, 50, 75 e 100%) de AP, bem como ao óleo bruto. Por ter uma maior relação superfície-volume, microalgas que possuem diâmetros menores, como é o caso da *Chlorella vulgaris* (3µm - 6 µm), evidenciam um proeminente poder de biorremediação, pois a redução do diâmetro celular é considerada uma resposta adaptativa ao estresse causado pela água residual. Essa redução de diâmetro então desencadeia, por parte da *Chlorella*, uma maior absorção e biotransformação dos xenobióticos presentes no meio (Calderón-Delgado; Mora-Solarte; Velasco-Santamaría, 2019). As evidências desse estudo, acrescidas das peculiaridades explanadas no tópico (2.1.1), podem explicar a predileção desse gênero pela comunidade científica para trabalhar com efluentes industriais.

Quanto à escala, o Quadro 5 ilustra que apenas um estudo dentro desse escopo trabalhou *outdoor*, Winckelman *et al.* (2015), e isso se constitui como mais uma lacuna para trabalhos em AP, principalmente em sistemas abertos do tipo *raceway*. Outrossim, tem-se a lacuna presente concerne ao tipo de cultivo, onde apenas Wood *et al.* (2015) desenvolveu um estudo com biofilmes em AP, sendo os demais preferencialmente realizados via o método de suspensão.

2.7 SUBSTITUIÇÃO DOS MEIOS SINTÉTICOS POR EFLUENTES NO CULTIVO DE MICROALGAS EM LARGA ESCALA

Conforme introduzido no tópico (2.6.1), para combater as barreiras ao cultivo de microalgas usando AP como substrato, os pesquisadores estão suplementando o cultivo com meios sintéticos onerosos. Em contrapartida, uma mistura de efluentes pode ser usada como uma alternativa de baixo custo, sobretudo os agrícolas e agroindustriais gerados em volumes expressivos no Brasil. Os biocombustíveis de microalgas encontram dois obstáculos de intensidade de custo: nutrientes (N e K) e abastecimento de água doce, que respondem por até 20-30% dos custos totais da produção de biodiesel para microalgas (Javed *et al.*, 2019).

Hernández-García *et al.* (2019) pesquisaram a mistura de dois efluentes utilizando as espécies *Scenedesmus obliquus* e *Desmodesmus* e concluíram que a mistura de efluentes

culminou em um acúmulo substancial de carboidratos (41% m/m). Desse modo, os autores defenderam a tese de que o bioetanol pode ser uma rota promissora para essa tecnologia de misturas de efluentes. Por outro lado, Lu *et al.* (2015) apontaram que obtiveram uma maior parcela de proteína com a mistura e uma diminuição dos custos de produção. Essa diferença da composição centesimal obtida nesses trabalhos é, provavelmente, baseada na natureza dos efluentes utilizados, bem como das espécies de microalgas empregadas, porém mostra que as misturas de efluentes têm potencial para a geração de um portfólio amplo de biomoléculas/bioproductos. Portanto, como não é necessária nenhuma atualização estrutural nas instalações de cultivo de algas para obter tais misturas e considerando a possibilidade de obter alto acúmulo de biomassa de algas, este método pode aumentar a competitividade do pacote tecnológico de uma BBMs.

Parsy *et al.* (2020) foram pioneiros e únicos, até o presente momento, em mostrar os benefícios da mistura de efluentes especificamente para AP. No entanto, utilizaram um efluente com baixa concentração de fósforo, recomendando assim o uso de uma suplementação sintética desse nutriente junto com a mistura de efluentes. Nota-se que, apesar de ser uma iniciativa interessante, esta proposta substitui apenas parcialmente a o meio comercial. Deve-se procurar encontrar efluentes ricos em nitrogênio e fósforo e com baixa salinidade, visando reduzir simultaneamente três aspectos: barreiras ao crescimento de algas, custos do processo e pegada ecológica. Assim, a despeito dos autores enfatizarem que praticaram a economia circular, a utilização de meios sintéticos compromete a concretude integral desta abordagem.

À luz de uma BBMs, a escolha desses efluentes para serem adicionados à AP perpassa por alguns critérios, a saber: (i) volume gerado; (ii) composição; (iii) custo de tratamento do efluente; (iv) impacto ao meio ambiente; (v) geração relativamente próxima aos campos de exploração de petróleo para baratear os custos logísticos. Em síntese, critérios geográficos, econômicos e ambientais precisam ser ponderados para a escolha do efluente ideal, de modo que a pesquisa científica presta um serviço, em parceria com as empresas, no estudo das viabilidades dos efluentes locais. Cabe salientar a dimensão social da utilização dos efluentes agrícolas na BBMs, uma vez que pequenos produtores rurais podem fornecer os efluentes das suas produções, obtendo mais receita ao mesmo tempo que agregam valor a toda cadeia produtiva e circular. Esse processo de contemplar os pequenos produtores associados a uma ideia precípua de biorrefinaria fora implementado na década de 70 no Brasil, mediante o projeto nacional do álcool (PROALCOOL), no qual exemplificara a importância do estado como indutor econômico de uma revolução verde por intermédio de um projeto nacional. No contexto brasileiro, por exemplo, dentre os resíduos agroindustriais que podem ser utilizados no cultivo

das microalgas, estão a manipueira, a vinhaça e o soro do leite. Devido à maior disponibilidade no nordeste brasileiro, utilizar-se-á especialmente a manipueira como uma possibilidade teórica e prática, assim como o soro do leite.

2.7.1 Soro do Leite

Na indústria de laticínios, o soro de leite líquido (SL), que é o resíduo resultante do processo de produção de queijo ou caseína, constitui uma parte substancial do volume total de leite processado (Salah *et al.*, 2023; Sánchez-Zurano *et al.*, 2024). A produção de queijo está projetada para aumentar em até 14% até 2029, o que resultará em um aumento correspondente na quantidade de SL gerado (Giulianetti de Almeida; Mockaitis; Weissbrodt, 2023). Entre os seus componentes, destacam-se os sais minerais (8-10%), lactose (4.5-5%), proteínas solúveis (0.6-0.8%), lipídios (0.4-0.5%), ácidos cítrico e láctico, além de compostos não proteicos como ureia, ácido úrico e vitaminas do complexo B (Amado *et al.*, 2016; Sánchez-Zurano *et al.*, 2024). Anualmente, a indústria de laticínios global produz cerca de 180 milhões de toneladas de soro de leite, das quais apenas 54% são processadas e convertidas em produtos alimentícios diversos (Gottardo *et al.*, 2022; Lavelli; Beccalli, 2022). O restante é frequentemente utilizado em fertilizantes, irrigação, ração animal ou descartado no meio ambiente, gerando eutrofização em corpos d'água. Embora essas alternativas sejam preferíveis ao descarte direto, elas podem acarretar problemas como aumento da acidez do solo, toxicidade devido ao conteúdo de sal e distúrbios digestivos em animais devido à alta concentração de lactose (Giulianetti de Almeida; Mockaitis; Weissbrodt, 2023; Peydayesh *et al.*, 2022; Santos, 2023).

Diante desse cenário, é imperativo o desenvolvimento de processos mais eficientes e sustentáveis para a valorização do soro de leite. O tratamento biológico surge como uma solução promissora, permitindo a utilização do soro em áreas emergentes como a produção de bioquímicos, bioplásticos e biocombustíveis (Sánchez-Zurano *et al.*, 2024). Estudos recentes têm explorado o uso do soro de leite na produção mixotrófica de microalgas, focando exclusivamente na produção de biomassa. Salati *et al.* (2017) descobriram que *Chlorella vulgaris* obteve um peso seco celular de 2,59 g L⁻¹ e um teor de proteínas de 45% quando cultivada em soro sob condições mixotróficas em comparação com o cultivo fototrófico (1,21 g L⁻¹ e 42%). Suwal *et al.* (2019) demonstraram que a microalga *Tetrademus obliquus*, quando cultivada em soro de leite, apresentou um crescimento duas vezes maior em comparação com o cultivo em meio sintético modificado, além de produzir prebióticos. Casá *et al.* (2022) também observaram um desempenho superior do cultivo mixotrófico de *Chlorella vulgaris*

utilizando soro de ricota, comparando-o com o método fotoautotrófico. Mais recentemente, Sánchez-Zurano *et al.* (2024) demonstraram a eficácia de um método de duas etapas para a produção de *Chlorella vulgaris* utilizando um meio suplementado com soro de leite. Em escala laboratorial, a suplementação do meio de cultura com 10% de soro resultou em um aumento de 2,8 vezes na produção de biomassa. Em escala piloto (100 L), a concentração de biomassa obtida com 10% de soro foi quase 3,6 vezes maior do que a obtida no meio de controle.

Embora os resultados sejam promissores, a maioria dos estudos anteriores enfrenta três limitações principais, que são relativamente similares aos estudos envolvendo microalgas em AP. Primeiramente, há uma ênfase predominante na escala laboratorial, com pouca exploração em escalas piloto ou industrial. Em segundo lugar, observa-se a ausência de uma abordagem de biorrefinaria que permita a valorização do sobrenadante restante, focando-se não apenas na produção de biomassa e sua composição. Por fim, há uma carência de investigação sobre o papel do consórcio microalga-bactéria na produção de exopolissacarídeos (EPS).

2.7.2 Manipueira

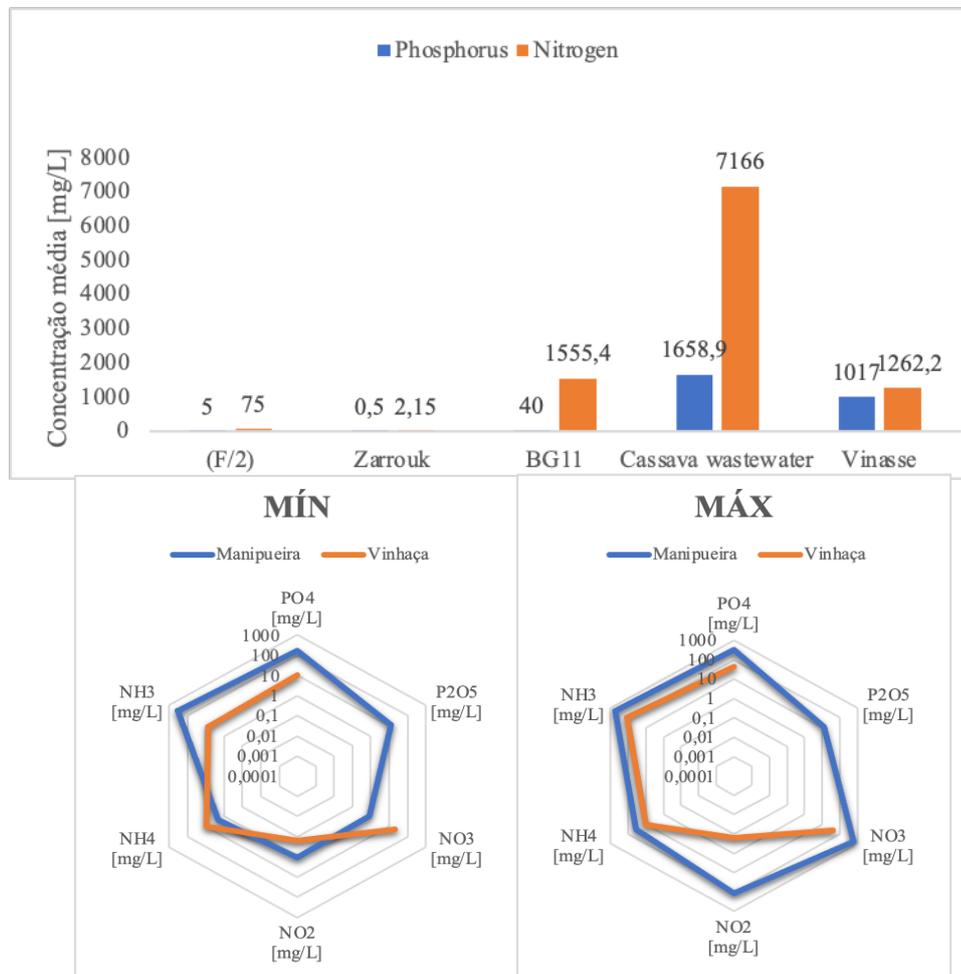
A manipueira (MP) é um resíduo líquido gerado durante a produção de farinha ou fécula de mandioca, caracterizado por sua riqueza em matéria orgânica e cianeto (Borges *et al.*, 2024). Suas propriedades físico-químicas variam conforme as condições de cultivo e processamento da mandioca. Utilizando o método de descascamento manual, uma tonelada de mandioca produz aproximadamente 300 litros de manipueira (Oliveira Neto, 2022). A concentração de matéria orgânica e resíduos tóxicos no efluente pode variar, influenciando diretamente seu grau de toxicidade. A gestão adequada da manipueira é essencial para minimizar os impactos ambientais, dado seu potencial risco devido aos altos níveis de cianeto e matéria orgânica.

Alternativas de reuso deste efluente vem sendo estudadas visando tornar a MP uma matéria-prima para produtos de alto valor agregado. Dentre essas alternativas, destacam-se: biocombustíveis, bioeletricidade, biofertilizantes e o cultivo de microrganismos como as microalgas (Cruz *et al.*, 2021; Oghenejoboh *et al.*, 2021; Oliveira Neto, 2022; Santos *et al.*, 2024).

De maneira geral, a MP contém nutrientes que as microalgas podem utilizar para se desenvolver, como o nitrogênio e o fósforo. A Figura 15 apresenta uma comparação média entre os constituintes nitrogenados e fosfatados da MP e dos meios de cultivo artificiais comuns nos cultivos de microalgas (Agwa *et al.*, 2014; Araujo *et al.*, 2021; Romaidi *et al.*, 2018) como o meio de cultivo f/2 (Guillard, 1975) e o BG 11 (Rippka *et al.*, 1979). As concentrações de

nitrogênio total da manipueira podem variar de $0,032 \text{ g L}^{-1}$ até $14,3 \text{ g L}^{-1}$, enquanto os níveis de fósforo partem de $17,8 \text{ mg L}^{-1}$, atingindo 3300 mg L^{-1} (Amorim *et al.*, 2016; Sangyoka; Poomipuk; Reungsang, 2012). Verifica-se que, em média, a MP dispõe de ordens de magnitude superiores em termos nitrogênio (amônia) e fósforo (fosfato) que os meios de cultivo sintéticos analisado. Ou seja, a MP, assim como a vinhaça, apresenta-se, a priori, como alternativas convenientes por dispensar a necessidade de suplementações complementares.

Figura 15 – Comparação média de fósforo total e nitrogênio total entre os efluentes manipueira, vinhaça e os meios sintéticos (f/2, Zarrouk e BG11)



Fonte: Elaborada pelo autor (2021)

De outro ponto de vista, a MP apresenta algumas características que dificultam o crescimento das microalgas, como a presença de cianeto e a turbidez. Segundo Carvalho *et al.* (2018) a mandioca possui cianeto na forma de glicosídeos cianogênicos, que são liberados durante a produção de farinha ou amido, o qual pode inibir o fornecimento de carbono e o transporte de elétrons no fotossistema das microalgas. Ademais, o excesso de substrato também

pode desencadear uma inibição nas microalgas, porém esses inconvenientes podem ser contornados com a diluição da própria AP, atrelado à realização de um pré-tratamento.

Cabe destacar que a amônia em MP, de acordo com os autores mencionados, geralmente oscila entre 300 até 500 mg L⁻¹. À primeira vista esse valor pode ser prejudicial para o cultivo de microalgas, na medida que a amônia pode acessar às células, comprometer o funcionamento dos cloroplastos e favorecer a via do carbono orgânico como suprimento energético em detrimento da fotossíntese (Moreno-Garcia *et al.*, 2019). Todavia, Moreno-Garcia *et al.* (2019) realizaram um estudo do cultivo de *Chlorella* sp. em misturas envolvendo quatro águas residuais e observaram algo interessante. Os pesquisadores reportaram que, à medida que o carbono orgânico oriundo da mistura de efluentes aumentou, houve um efeito protetivo contra a amônia, onde os impactos da toxicidade desta às microalgas foram atenuados no meio de cultivo. Esse resultado sugere um cenário promissor para a mistura de AP-MP, uma vez que a presença do carbono orgânico oriunda deste par de efluentes diminuiria os efeitos tóxicos da amônia no meio de cultivo e favoreceria o crescimento mixotrófico das microalgas. Ressalta-se, contudo, que, como a presença de amônia na sua forma não ionizada seja pH dependente, caso o pH dos dois efluentes seja baixo, faz-se necessário a correção prévia do mesmo antes de iniciar o cultivo.

Embora os estudos com mistura de efluentes tenham sugerido benefícios diversos, faz-se necessário conhecer as nuances desta relação, isto é, os efeitos individuais e de interação entre as concentrações dos mesmos e a influência em cada bioproduto (variável resposta). Afinal, a mistura pode favorecer a produtividade da biomassa, mas pode desfavorecer, por exemplo, a produção de EPS e a sua respectiva viscosidade. Afora a compreensão das relações interativas entre os efluentes e as respostas, urge também, dentro do domínio experimental estudado, otimizar ditas respostas, conhecendo, portanto, as melhores condições de síntese para cada bioproduto. Para elucidar essas relações em que uma resposta de interesse é influenciada por várias variáveis independentes, é necessário a utilização de um ferramental estatístico que realize um planejamento experimental de segunda ordem, como, por exemplo, a matriz de Doehlert (Bezerra *et al.*, 2008).

2.7.3 Sistematização da literatura e lacunas tecnológicas

Com base em tudo o que foi apresentado, a revisão do estado-da-arte possibilitou a identificação e classificação dos desafios e lacunas tecnológicas da área envolvendo microalgas em AP e SL. Cinco categorias foram encontradas (e.g., pré-tratamentos, escala de produção,

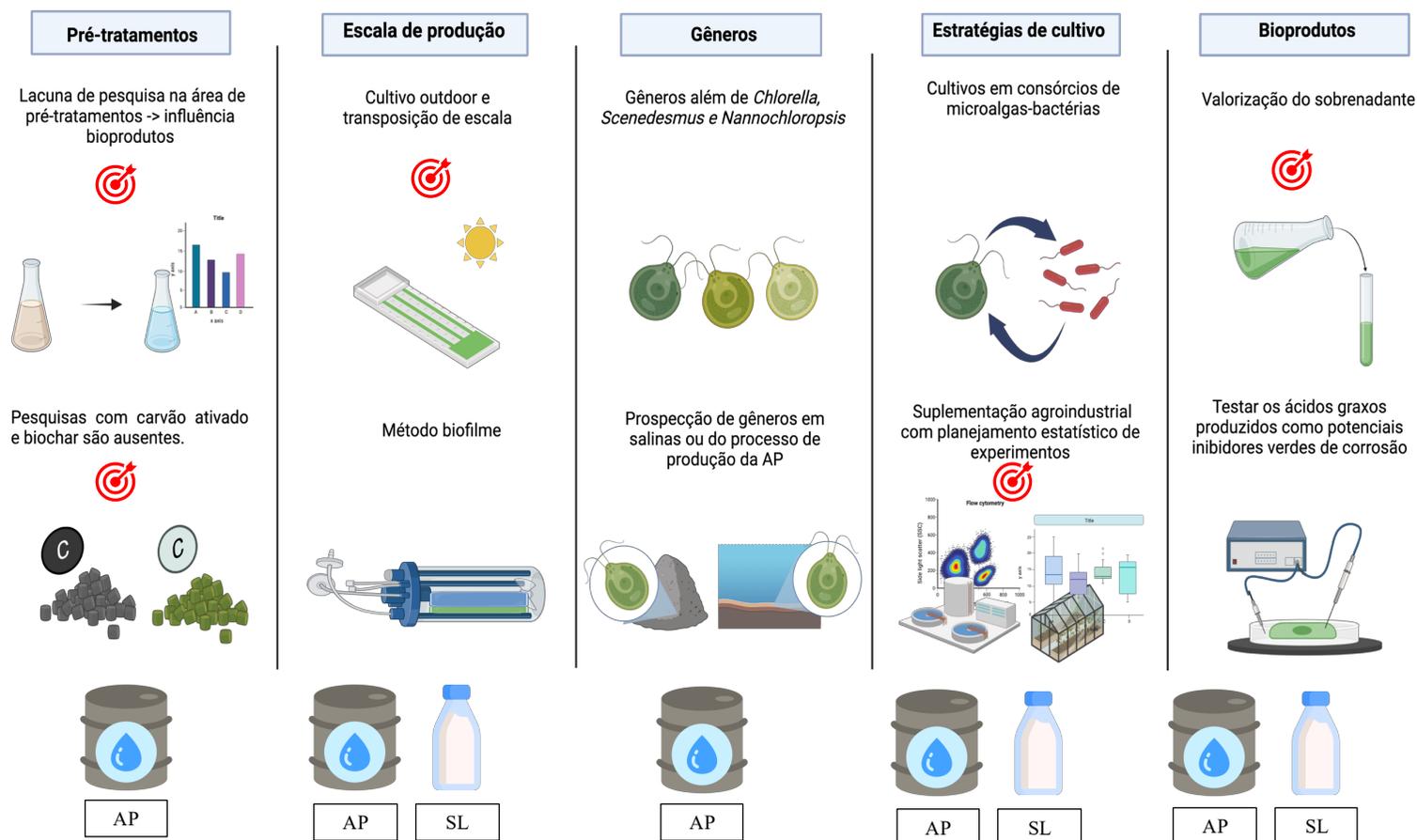
gêneros, estratégias de cultivo e bioprodutos), apresentando individualmente duas lacunas a serem exploradas conforme Figura 16. Salienta-se que esta tese almeja contribuir com parte destes desafios, identificados por meio dos alvos em vermelhos.

Em cada categoria abordada nesta tese, há lacunas que não serão exploradas, representando oportunidades para pesquisas futuras. Por exemplo, na categoria de pré-tratamentos, não foi realizado um estudo sobre o uso de *biochar* como adsorvente para pré-tratar a (AP), embora sua formação potencial tenha sido indicada. Em relação à escala de produção, a seção (2.6.4) e o Quadro 5 destacam a falta de estudos envolvendo AP em escala piloto e *outdoor*. Além disso, o cultivo de microalgas em forma de biofilmes merece avaliação, pois, em comparação com o método convencional de suspensão, pode concentrar até 10 vezes mais biomassa e remover mais nutrientes e sólidos, reduzindo os custos de colheita (Hodges *et al.*, 2017; Schnurr; Espie; Allen, 2016).

Na categoria de gêneros de microalgas, os mais estudados até o momento são *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Nannochloropsis*. No entanto, as cianobactérias e *Dunaliella salina*, conhecidas por sua hipertolerância à salinidade, têm sido raramente investigadas para estes efluentes. Outra estratégia promissora para futuros estudos é o isolamento e análise de espécies nativas de poços de extração de petróleo ou de salmouras, como demonstrado recentemente por Concas, Lutz e Turgut Dunford (2021), que isolaram *Komvophoron sp.* de diferentes poços nas Grandes Planícies Salgadas dos EUA.

Analogamente, o cultivo em consórcios com bactérias para o tratamento de (AP) pode representar uma contribuição significativa, especialmente com cepas bacterianas isoladas de poços de petróleo, conforme demonstrado no estudo relevante de Valle (2021). Por fim, no que diz respeito aos bioprodutos, além do foco no biodiesel, esta tese menciona aplicações emergentes dos ácidos graxos oriundos dos cultivos de AP, como o uso de ômega-3 e inibidores de corrosão verde. No entanto, estas aplicações ainda não foram objeto de testes experimentais e podem ser exploradas em pesquisas futuras.

Figura 16 – Sistematização dos desafios e lacunas tecnológicas envolvendo microalgas em AP e SL em cinco categorias. Na região inferior da figura, os símbolos AP e SL referem-se àquelas categorias em que as lacunas foram encontradas para esses efluentes

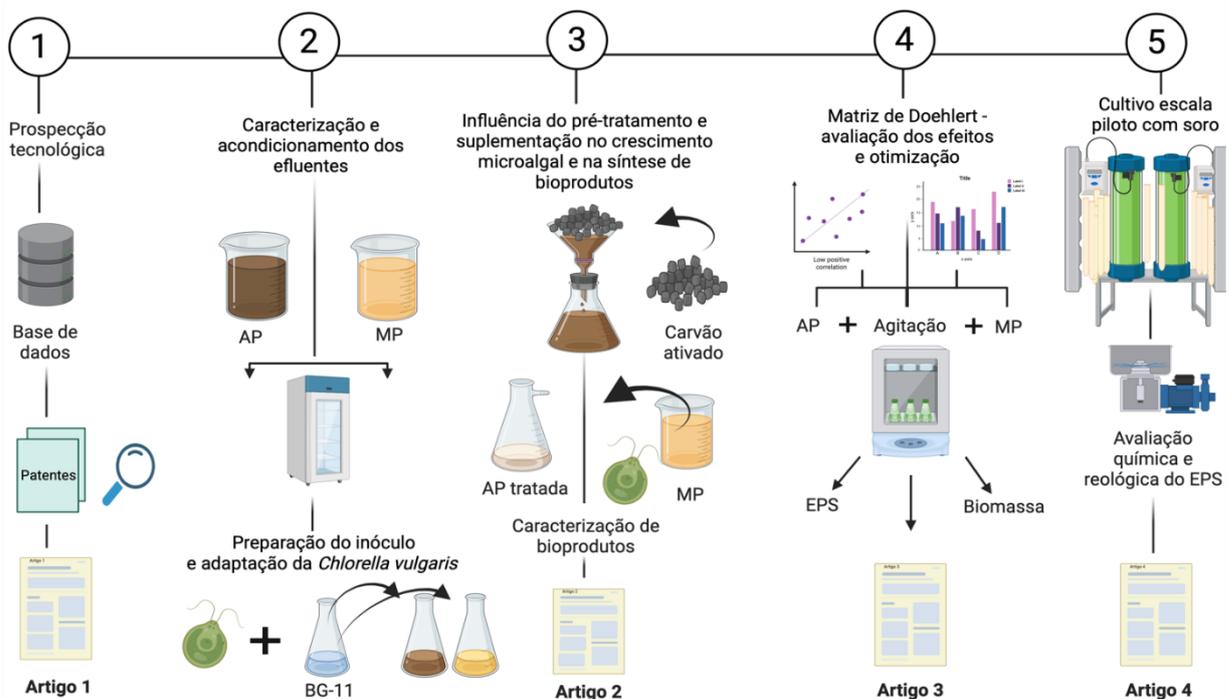


Fonte: Pessoa et al. (2022)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 17 ilustra a divisão deste capítulo em cinco blocos logicamente encadeados, cada um desmembrado em passos metodológicos. Os quatro primeiros blocos foram desenvolvidos em Salvador, na Universidade Federal da Bahia, utilizando a microalga *Chlorella vulgaris* e os efluentes águas produzida (AP) e manipueira (MP), em escala de laboratório. O quinto bloco foi desenvolvido na Universidade de Almería e no instituto de pesquisa IFAPA, no sul da Espanha. Embora tenha sido utilizada a mesma microalga dos blocos anteriores, neste último bloco foi empregada uma escala piloto, juntamente com a valorização do soro do leite (SL).

Figura 17 – Estruturação da biorrefinaria e valorização dos efluentes pelas microalgas realizadas neste trabalho em cinco blocos diferentes



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

3.1 PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

O método de prospecção tecnológica foi aplicado com base em dados recuperados de documentos de patentes dos últimos 20 anos, utilizando um método híbrido de revisão bibliométrica e mineração de texto. A plataforma Espacenet e o software Orbit® foram

empregados para essa análise de mercado. *Espacenet* é um banco de dados de informações de patentes de acesso livre desenvolvido e fornecido pelo Escritório Europeu de Patentes (EPO). Orbit® é uma plataforma privada da empresa Questel dedicada à pesquisa e análise de patentes. Os dados obtidos do *Espacenet* foram importados no software *CSVed*, compilados e exportados para o Microsoft Excel.

O Orbit® foi utilizado em conjunto com o *Espacenet* devido às suas ferramentas analíticas visuais e abrangentes, especialmente para pesquisar os domínios tecnológicos predominantes e clusters de palavras-chave. A busca foi realizada utilizando códigos de classificação internacional e palavras-chave relevantes para o assunto investigado. As palavras “*Microalgae*” e “*Biorefinery*” foram cruzadas individualmente usando o operador “*and*” com códigos IPC distintos C02 (tratamento de água e efluentes), C02F3 (tratamento bioquímico de efluentes) e C12 (bioquímica e microbiologia). Nas plataformas, essas combinações foram buscadas tanto no campo “título” quanto no campo “resumo” para aumentar o escopo de pesquisa.

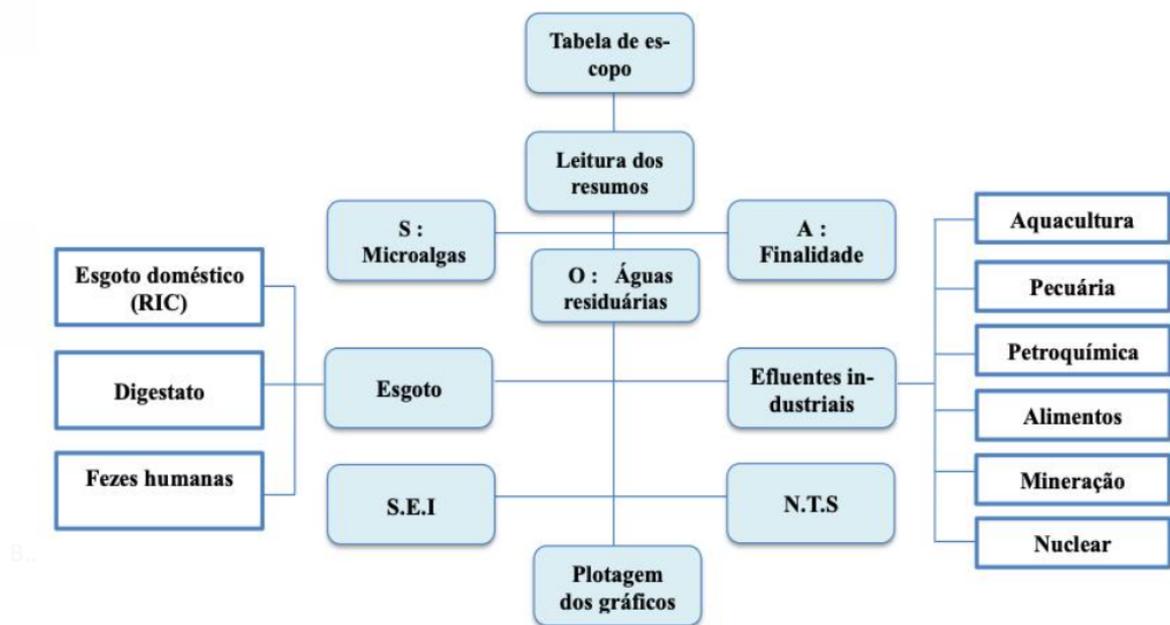
Feitas as combinações apropriadas, os documentos foram recuperados e processados no software *CSVed*; todos os resumos das patentes foram lidos e as informações foram separadas e classificadas em Excel de acordo com os seus tópicos estratégicos. Fornecer dados estruturados (e.g., evolução temporal, cobertura geográfica, principais aplicantes e instituições) em formulários de patentes são características bibliométricas e a obtenção dessas informações requer apenas compilação e contagem, prescindindo a leitura dos documentos. Assim, constitui-se a primeira etapa do modelo conforme a Figura 18:

Figura 18 – Primeira parte: análise bibliométrica dos dados estruturados



Já os dados não estruturados que continham informações técnicas (e.g., efluente utilizado, finalidade da tecnologia desenvolvida, tipo de indústria e suas especificidades) foram adquiridos por meio da leitura dos resumos, seguida da compilação, categorização e quantificação dos arquivos. Nesta etapa de mineração de texto (Figura 19), os principais achados foram extraídos dos resumos e transformados em estruturas de linguagem simples, usando o modelo sujeito-ação-objeto (SAO) como referência durante todo o processo. Para identificar as funções de uma determinada tecnologia, SAO é um método de processamento de linguagem natural frequentemente usado no qual sujeitos e objetos podem ser relacionados aos componentes de um sistema e ações podem se referir aos papéis atribuídos a esses componentes (Abbas; Zhang; Khan, 2014).

Figura 19 —Segunda parte: mineração de dados não estruturados



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Neste estudo, “Sujeito (S)” retrata o exame de espécies de microalgas que foram utilizadas em patentes; “Ação (A)” representa a finalidade da patente, isto é, os microrganismos foram utilizados para valorização da biomassa, biorremediação do efluente ou ambos; e por último, “Objeto (O)” indica a origem de efluentes e suas especificidades. Assim, o termo “águas residuais” foi dividido em quatro blocos distintos de acordo com a origem do efluente: (i) esgoto doméstico (residências, instituições e comércio) e o digestato ou chorume de biogás; (ii) efluentes industriais (refere-se aos especificados de acordo com o tipo de indústria); (iii)

questões ambientais específicas (SEI) que tratam de corpos d'água eutrofizados, métodos para atenuar a proliferação de algas (usando um agente de remediação biológica) ou métodos para tratar corpos d'água poluídos em laboratório; (iv) NTS (não tem especificação) refere-se aos documentos que não especificam a origem do efluente.

Em seguida, foram feitas comparações entre as patentes analisadas e os artigos científicos publicados nesta área para identificar as tendências tecnológicas, isto é, o que efetivamente de ciência básica está se tornando tecnologia, mostrando, assim, as lacunas de pesquisa para trabalhos potenciais. Por fim, o ciclo de vida das tecnologias foi mensurado mediante o cálculo de parâmetros de modelos empíricos sigmóides ajustados. Os modelos matemáticos utilizados foram os seguintes: BoltzIV, DoseResp, BidoseResp, Logístico, Gompertz e Richards. A análise baseou-se na curva S para caracterizar a fase tecnológica, conforme a abordagem de Andrade *et al.* (2024) e Ortiz Cantú e Pedroza Zapata (2006). Essa curva, derivada do acúmulo anual de patentes, permite compreender e classificar o estágio de desenvolvimento do mercado como embrionário, crescente, maduro ou em declínio.

3.2 CARACTERIZAÇÃO E ACONDICIONAMENTO DE EFLUENTES

3.2.1 Água produzida

Coletou-se a AP no município de Santo Amaro das Brotas (latitude 10°46'44" sul; 37°3'30" Oeste) localizado a 41 km da capital Aracaju, em Sergipe, fornecida por uma empresa de exploração de petróleo da região. A AP foi transportada para a Universidade Federal da Bahia (UFBA) em vasos de polipropileno estéreis mantidas sob refrigeração a 5 °C até a sua utilização.

A composição química da água residual foi analisada no laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador-Ba. As características físico-químicas da água produzida foram determinadas: Cloreto (Cl⁻) pelo método SM4500C1B; Sulfato (SO₄²⁻) por SM4500E; Chumbo (Pb), Arsênio (As), Cádmio (Cd), Níquel (Ni), Cobalto (Co), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Molibdênio (Mo), Vanádio (V), Selênio (Se), Titânio (Ti), Ferro (Fe), Zinco (Zn) e Cromo (Cr) pelo método SM3120B; Bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e Carbonato de sódio (H₂CO₃) por SM2320A/B; Hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP) EPA8015D; Hidrocarbonetos policíclico aromático (HPA) EPA8270D; pH SM4500(H⁺)B; salinidade SM2520C; óleos e graxas totais SM2520C e sólidos totais dissolvidos (STD) SM2540. As características físico-

químicas e os metais presentes foram analisados usando os métodos padrão para análise de água e esgoto e por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivo acoplado (ICP-OES) SM3120B. Além disso, as amostras pré-tratamento e pós-tratamento com o carvão ativado foram analisados pela empresa ALS em Lauro de Freitas, Bahia, e pela sua sede em São Paulo. Os BTEX foram analisados pelo método USEPA 8260 C; Carbono orgânico total (TOC) pelo método SMWW 23a Ed. 2017 - 5310 TOC B, Fósforo por SM 4500-P B e Nitrogênio total (NT) por SMWW 23a Ed. 2017 - 4500 Norg B; 4500 NH3 C; 4500 NO²⁻ B; 4500 NO³⁻ E.

3.2.2 Manipueira

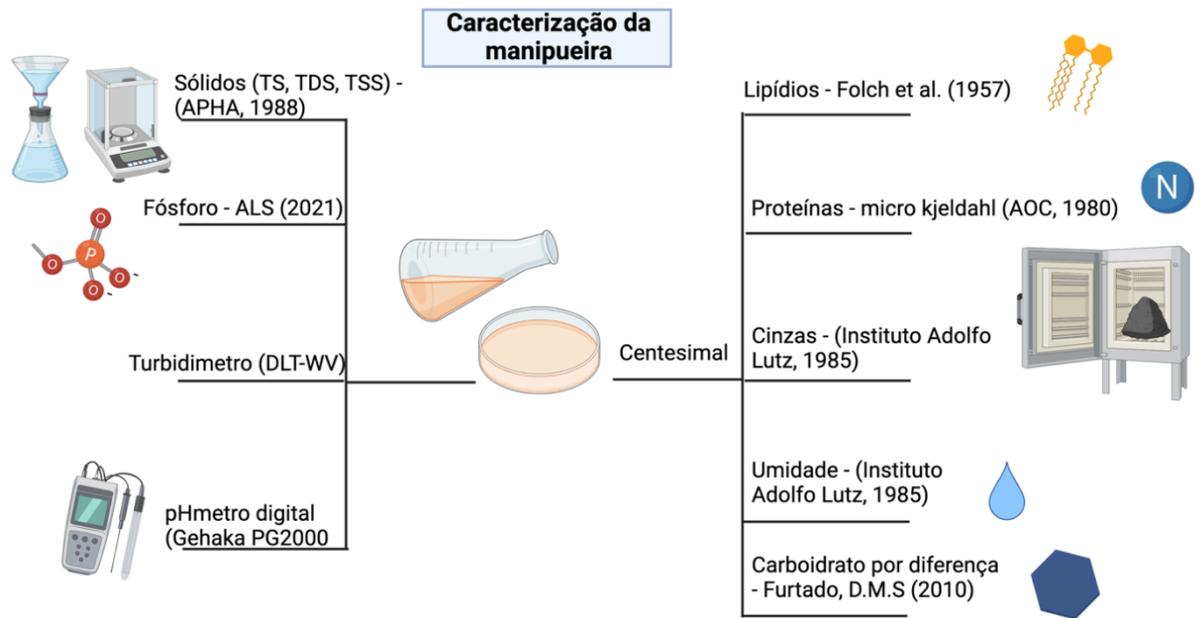
A MP foi coletada no município de Inhambupe, no estado da Bahia, localizado a 153 km de Salvador, sendo fornecida por uma empresa de tapioca da região. A manipueira foi transportada para a Universidade Federal da Bahia (UFBA) via garrafas PET de 2 L e mantidas sob refrigeração a -20 °C até a sua utilização.

Realizou-se a caracterização da MP mediante uma análise centesimal. O teor de lipídios total foi extraído e quantificado pelo método de Folch (Folch; Lees; Sloane, 1957). Para a avaliação do teor de proteína das amostras, utilizou-se a metodologia de micro-kjeldahl, abarcando o bloco digestor, o destilador de nitrogênio e a etapa de titulação. O fator de conversão para proteína total foi feito por N x 6,25 (AOAC, 1980) (Dias; Leonel, 2006). Já o teor de fósforo foi realizado pelo laboratório Life Science Brasil (ALS) em Lauro de Freitas, Bahia, através do método SMWW 22^a Ed. 2012 - 4500 P B, C. Cinzas e umidade foram quantificados via metodologia do Instituto Adolfo Lutz (Zebebon; Pascuet; Tiglea, 2008). O teor de carboidratos, por sua vez, foi calculado pela diferença centesimal de acordo com a Equação 1 a seguir:

$$\text{Carboidratos} = 100\% - \%lipídios - \%proteínas - \%umidade - \%cinzas \quad (1)$$

O pH foi medido em pHmetro digital (Gehaka PG2000), ao passo que a quantificação das concentrações de ST, SS e STD ocorreram por gravimetria, segundo o *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998) (Correia *et al.*, 2018). A caracterização da MP foi sintetizada na Figura 20.

Figura 20 – Etapas de caracterização da manipueira



Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

3.2.3 Preparação do inóculo, aclimação da *Chlorella vulgaris* e teste preliminar

A cepa de *Chlorella vulgaris* foi obtida do pelo Banco de Microalgas do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Para obtenção do inóculo a ser utilizado nos experimentos, a cepa foi cultivada em meio sintético BG-11 (NaHCO_3 ; $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; NaNO_3 ; Na_2CO_3 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ e EDTA) e elementos traços (Rippka *et al.*, 1979). Utilizou-se fotobiorreatores do tipo erlenmeyer, de 1L, com aeração constante e filtração por fibra de vidro, sendo o ar provido por bombas de injeção. O cultivo foi realizado em câmara incubadora (TECNAL 371/240L), de modo que a temperatura permaneceu constante a 25°C e com fotoperíodo 12h (claro-escuro). A iluminação artificial foi fornecida por lâmpadas fluorescentes com $41,60 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Para o processo de aclimação, o inóculo da *Chlorella vulgaris* foi transferido para um erlemneyer de 500 mL preparado com 10% (v/v) de AP e o remanescente de BG-11. Em seguida, no mesmo erlemneyer, o procedimento an\u00e1logo foi repetido para a aclimação com a manipueira em 5% (v/v). O processo de aclimação foi monitorado diariamente por medida de densidade \u00f3tica (680 nm), perdurando-se at\u00e9 a curva de crescimento alcan\u00e7ar a fase de desacelera\u00e7\u00e3o. A evapora\u00e7\u00e3o dos cultivos foi controlada mediante adi\u00e7\u00e3o di\u00e1ria de \u00e1gua destilada. Para o teste preliminar, avaliou-se o efeito da esteriliza\u00e7\u00e3o por vapor \u00famido (121°C , 15 minutos) da AP nos par\u00e2metros cin\u00e9ticos de crescimento da *Chlorella*, a fim de averiguar se dito efeito seria ou

não significativo. Partindo-se do inóculo adaptado apenas em AP, dois cultivos de 10% (v/v), sendo um com a água esterilizada e o outro com a água bruta, foram acompanhados por 14 dias na câmara incubadora nas mesmas condições de processo supracitadas. Alíquotas de um mesmo volume foram analisadas em microscópio com resolução de 40x para avaliação de contaminação, população e diferença morfológica.

3.3 INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO NO CRESCIMENTO MICROALGAL E NA SÍNTESE DE BIOPRODUTOS

Esse terceiro bloco constitui a produção do primeiro artigo experimental, o qual inicia pelo pré-tratamento da AP com o carvão ativado com subsequente análise da eficácia do pré-tratamento frente às barreiras explanadas no tópico de revisão bibliográfica (2.6.1). Posteriormente, iniciaram-se os experimentos.

3.3.1 Pré-tratamento da AP com carvão ativado

Utilizou-se carvão ativado peletizado de 4 mm de espessura, modelo C-1000 da SKRW, para preencher completamente o filtro, empregando 486 g de carvão. A geometria por pellets foi priorizada com vista à uma menor adsorção dos eventuais componentes desejáveis (e.g., N, P, C e micronutrientes).

As águas tratadas foram acondicionadas em garrafas de polipropileno estéreis e mantidas em refrigeração a 5 °C até a sua utilização. A posteriori, amostras foram enviadas ao laboratório Life Science Brasil (ALS) em Lauro de Freitas, Bahia, para análise dos seguintes compostos: BTEX pelo método de referência USEPA 8260 C; carbono orgânico total (TOC) - SMWW 23ª Ed. 2017; fósforo - SMWW 22ª Ed. 2012 - 4500 P B e cloreto de sódio - SMWW 23ª Ed. 2017 - 4500 ClB. A eficiência do pré-tratamento foi calculada mediante a Equação 2 abaixo:

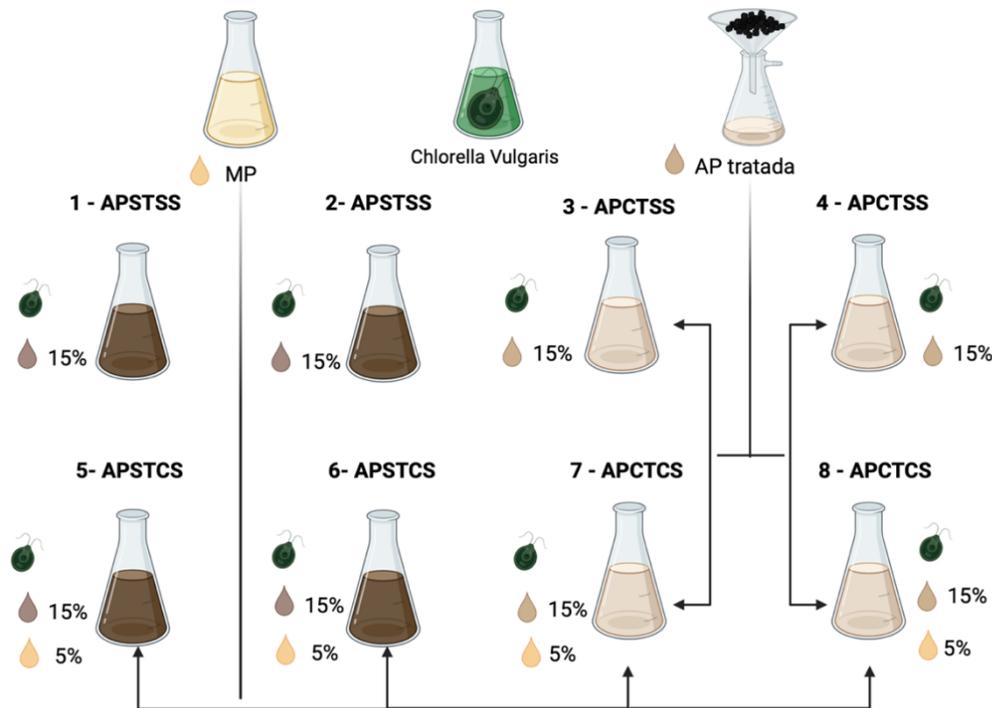
$$eficiência = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \quad (2)$$

3.3.2 Diagramação dos experimentos

Oito erlenmeyers de 250 mL foram utilizados para essa etapa. Utilizou-se 15% (v/v) de AP em todos os fotobiorreatores, mas a diferença residiu no pré-tratamento, na medida em que

os erlenmyers 1,2,5 e 6 utilizaram água produzida sem tratamento (APST); enquanto os 3,4,7 e 8 utilizaram água produzida com tratamento (APCT). Concernente à suplementação, os fotobiorreatores 5,6,7,8 utilizaram manipueira como suplementação (CS), ao passo que os demais foram sem suplementação (SS). A Figura 21 mostra o desenho de experimentos. Ambos os efluentes foram autoclavados em vapor úmido (121 °C, 15 minutos), sendo a manipueira pré-tratada com membrana de acetato de celulose lisa (0,45 µm, 47 mm).

Figura 21 – Desenho de experimentos testando pré-tratamento e suplementação. Duplicatas foram realizadas para cada ponto



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Criou-se, previamente, quatro curvas analíticas diferentes para cada duplicata acima, objetivando realizar a correlação entre densidade ótica (680 nm) e a concentração celular X (g L^{-1}) ao longo do experimento. O comprimento de onda de 680 nm foi determinado mediante a varredura prévia no espectrofotômetro (PerkinElmer Lambda 35 UV/VIS), almejando identificar a região com um sinal de maior absorção. Os experimentos foram realizados em câmara incubadora com controle de temperatura a 25 °C, assim como um regime de fotoperíodo 12h (claro-escuro). Durante 23 dias, aproximadamente no mesmo horário, alíquotas dos cultivos foram retiradas e lidas em triplicata no espectrofotômetro. A evaporação foi controlada mediante adição diária de água.

3.3.3 Cinética de crescimento microalgal

Os parâmetros cinéticos dos cultivos das microalgas foram avaliados com relação à concentração máxima de biomassa ($X_{m\acute{a}x}$, g L⁻¹), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$, g L⁻¹ d⁻¹), calculado com a equação:

$$P_d = \left(\frac{X_t - X_0}{T_c - T_0} \right) \quad (3)$$

Onde X_t refere-se à concentração de biomassa no tempo t (d) e X_0 é a concentração de biomassa no tempo t_0 (d); velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$, d⁻¹), obtida pela regressão exponencial da fase logarítmica de multiplicação celular e o tempo de geração (T_g , d), obtidos de acordo com Schmidell *et al.* (2001).

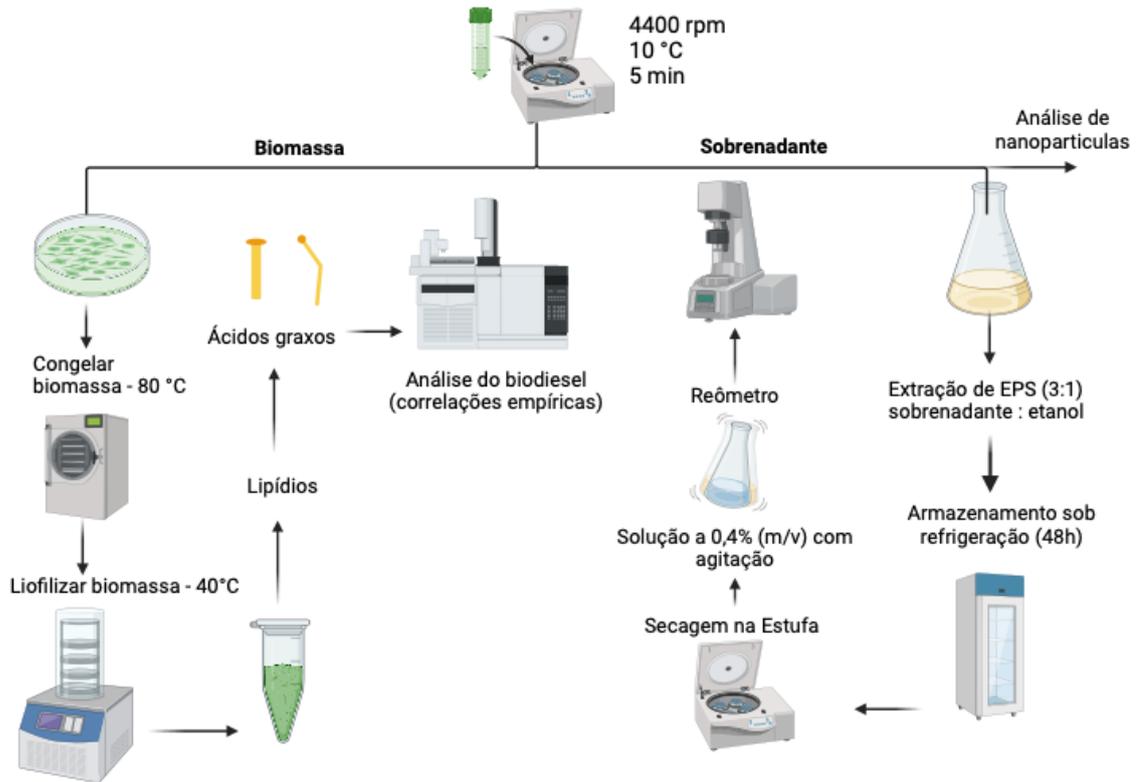
$$T_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{m\acute{a}x}} \quad (4)$$

Todas as curvas de crescimento microalgal foram originadas no software Microsoft Excel.

3.3.4 Extração de bioprodutos

Quando atingiu o início da fase estacionária, o cultivo foi encerrado e a biomassa foi recuperada por centrifugação (Eppendorf 5702 R) a 4400 rpm durante 5 minutos. No intuito de se obter uma maior quantidade de biomassa, as duplicatas foram misturadas, originando 4 erlemmeyers. Lavou-se com água destilada e centrifugou-a novamente (4400 rpm durante 4 minutos a 10 °C) para remoção dos sais, armazenando-a em ultrafreezer a -80 °C para subsequente liofilização. O sobrenadante, por sua vez, foi extraído e condicionado a 5 °C para posterior extração de EPS, bem como para avaliação da presença de nanopartículas metálicas. A Figura 22 representa a esquematização desta etapa de separação da biomassa e do sobrenadante.

Figura 22 – Separação e destinação da biomassa e do EPS



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

3.3.5 Composição da biomassa celular

O conteúdo lipídico total da biomassa coletada nos quatro pontos distintos (1, 2, 3 e 4), conforme ilustrado na Figura 22, foi extraído e quantificado utilizando o método descrito por Folch, Lees e Sloane (1957). A análise da composição dos ácidos graxos foi realizada por meio de transmetilação com trifluoreto de boro em hexano, seguida de identificação e quantificação por Cromatografia Gasosa (CG-FID) no equipamento Clarus 680 da Perkin Elmer, conforme metodologia proposta por Andrade *et al.* (2019) e Carvalho (2022). A identificação dos ácidos graxos foi realizada comparando os tempos de retenção dos picos das amostras com padrões fornecidos pela Sigma (EUA), conforme descrito por Jesus *et al.* (2018). As áreas dos picos foram determinadas utilizando o software Clarus Chromatography Workstation, permitindo a normalização das áreas percentuais dos ácidos graxos totais, conforme metodologia de Nascimento *et al.* (2013). Afora lipídios, determinou-se os teores de proteínas pela metodologia de Kjeldhal (AOAC, 1997), utilizando-se de um fator de conversão de 5,22 para as microalgas (Andrade *et al.*, 2019). Diferentemente da caracterização da manipueira, o teor de cinzas e de umidade da biomassa nessa etapa foram obtidos através de

um analisador termogravimétrico (Pyris-1, Perkin-Elmer). Assim, aplicou-se a (Eq 1) para o cálculo dos carboidratos por diferença centesimal.

3.3.6 Parâmetros da qualidade do biodiesel

As propriedades mais importantes para biocombustível foram avaliadas em todas as biomassas. Os parâmetros analisados foram, a saber: valor de iodo (VI), valor de saponificação (VS), número de cetanos (NC), fator de saturação de cadeia longa (FSCL), grau de insaturação (GI) e ponto de entupimento do filtro a frio (PEFF), viscosidade cinemática (VC), densidade e poder calorífico superior (PCS). Esses parâmetros foram calculados a partir de equações empíricas relatadas por Cardoso *et al.* (2020) e Zhang *et al.* (2018). Partiu-se do perfil de ácidos graxos (AG) encontrado para cada tratamento realizado (i.e., APSTSS, APCTSS, APSTSS e APCTCS). Os cálculos de VS e VI foram baseados nos valores de VS e VI dos óleos vegetais de soja, palma e amendoim.

$$VI = \Sigma (254 \times D \times N) / M \quad (\text{Eq.5})$$

$$VS = \Sigma (560 \times N) / M \quad (\text{Eq.6})$$

$$NC = 46,3 + (5,458 / SV) - (0,225 \times IV) \quad (\text{Eq.7})$$

$$FSCL = (0,1 \times C16) + (0,5 \times C18) + (1 + C20) + (1,5 \times C22) + (2 \times C24) \quad (\text{Eq.8})$$

$$GI = MUFA + (2 \times PUFA) \quad (\text{Eq.9})$$

$$PEFF = (3,1417 \times FSCL) - 16,477 \quad (\text{Eq.10})$$

$$GMI = \Sigma (Y_i \times D) \quad (\text{Eq.11})$$

$$VC = -0,6316 D + 5,2065 \quad (\text{Eq.12})$$

$$\text{Densidade} = 0,0055 D + 0,8726 \quad (\text{Eq.13})$$

$$PCS = 1,7601 D + 38,534 \quad (\text{Eq.14})$$

GMI é o grau médio de insaturação do óleo de microalgas; N é a fração mássica de cada constituinte do (AG), D é o número de ligações duplas carbono-carbono em cada constituinte do AG, M é a massa molecular do ácido graxo.

3.3.7 Extração dos EPS e propriedades reológicas

Conforme indicado na Figura 22, os EPS foram extraídos do sobrenadante mediante a utilização de etanol absoluto numa proporção de 3:1(v/v) etanol-sobrenadante. A despeito desta

proporção ser variada na literatura, seguiu-se o estudado por Patel *et al.* (2013), uma vez que os pesquisadores obtiveram uma maior pureza e rendimento dos EPS quando utilizaram a proporção de 3:1 para o etanol. A metodologia de extração seguida foi a de Jesus *et al.* (2019), porém com algumas modificações. A mistura foi armazenada sob refrigeração por 48h, o precipitado foi separado por centrifugação (4400 rpm, 10 min), seco em estufa de circulação (35°C, 48h) e quantificado por gravimetria, em g L⁻¹.

A partir do EPS seco, soluções de 0,4% (m/v) serão preparadas com água destilada. Essas soluções foram levadas à uma mesa com agitador magnético por tempo suficiente para tornar a solução o mais homogênea possível (aproximadamente 2h). Findado este processo, designaram-se as soluções para refrigeração (por 24h a 5°C) antes de se proceder às medições de viscosidade, com o intuito de recuperar a estabilidade das cadeias poliméricas e redução de bolhas.

Para o estudo reológico, o equipamento utilizado foi o reômetro *Haake Rheotest* com dispositivo de cilindros concêntricos, acoplado a um banho-maria. Avaliou-se a influência da taxa de cisalhamento (de 25 s⁻¹ a 1000 s⁻¹) e da temperatura (25°C, 45°C, 65°C e 85°C) na viscosidade aparente das quatro soluções de EPS oriundas dos pontos (1e2,3e4,5e6,7e8) produzidas pela *Chlorella vulgaris*.

Aplicou-se aos dados de tensão cisalhante, medidos em diferentes taxas de deformação, o modelo matemático de Ostwald-de Waele ou “*power-law*” (Brandão, 2012). Esse modelo de ajuste foi utilizado para a determinação do comportamento pseudoplástico das soluções, caracterizado pela equação:

$$\eta = \left(\frac{\tau}{\dot{\gamma}} \right) = K \cdot (\dot{\gamma})^{n-1} \quad (15)$$

Onde η é a viscosidade aparente (cP); τ é a tensão de cisalhamento (mPa), $\dot{\gamma}$ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹). K é o índice de consistência; n é o índice de fluxo. Os resultados foram comparados com um biopolímero viscosificante comercial, a goma xantana sigma, à semelhança do método realizado por Carvalho (2022).

3.3.8 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras de EPS foram analisadas qualitativamente por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) utilizando o espectrômetro (Perkin Elmer

Model Spectrum 100, EUA). As análises foram realizadas na faixa de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , empregando um acessório ATR de reflexão única com um cristal de seleneto de zinco.

3.3.9 Determinação do Tamanho de Partícula e Índice de Polidispersidade (PDI), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

Conforme salientado na Figura 22, uma fração do sobrenadante, antes de ser submetida à precipitação com etanol, foi separada e liofilizada a -40°C (LIOBRAS L101) para avaliação da presença de nanopartículas metálicas. As nanopartículas foram caracterizadas a partir da análise da morfologia, do diâmetro médio ($Z_{average}$) e do índice de polidispersidade (PDI). Utilizou-se o espalhamento dinâmico de luz (DLS) pelo equipamento Zetasizer Nano S90 (Malvern Instruments, Reino Unido). A amostra foi diluída em água ultrapura na proporção de 1:100 (v/v) com todas as medições realizadas em triplicata a uma temperatura de 25°C . As micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas utilizando o equipamento JEOL JSM-6610LV, localizado no Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica (LAMUME), no Instituto de Física da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Os espectros de raios X e os mapas elementares foram adquiridos com o mesmo equipamento, que possui um detector de energia dispersiva de raios X (EDS) acoplado. A distribuição de tamanho das partículas foi realizada pelo *software* IMAGE J, sendo expressas como médias \pm desvios padrão e plotadas em histogramas pelo *software* OriginPro 8.5 (Northampton, MA, USA). Duas rodadas de análise das imagens pelo MEV foram realizadas. Com o intuito de visualizar melhor as partículas e assegurar a sua composição isenta de compostos orgânicos, realizou-se um tratamento térmico em mufla (600°C , 5h) nas amostras liofilizadas do sobrenadante.

3.3.10 Análise termogravimétrica da biomassa

As análises termogravimétricas foram conduzidas utilizando uma termobalança (Pyris-1, PerkinElmer). As amostras de biomassa foram aquecidas de 25°C a 800°C , a uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto, em atmosfera inerte de nitrogênio (N_2). O teor de cinzas foi determinado diretamente a partir do produto da decomposição térmica até 600°C . O teor de umidade foi obtido no primeiro evento de perda de massa térmica, que foi melhor visualizado pela curva de Derivada Termogravimétrica (DTG) entre 25°C e 150°C (Silva *et al.*, 2021).

3.4 OTIMIZAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS

Este quarto bloco aborda a produção de um segundo artigo experimental, no qual uma metodologia de superfície de resposta é aplicada ao cultivo de microalgas para identificar os efeitos individuais e de interação entre as variáveis independentes (concentrações dos efluentes e agitação) nas variáveis dependentes (produção de biomassa e de EPS). Além disso, a otimização das respostas foi investigada, e uma análise de desejabilidade global das respostas foi aplicada, com o objetivo de otimizar simultaneamente as duas variáveis-respostas mencionadas.

3.4.1 Planejamento experimental

A construção da matriz de Doehlert codificada realizou-se com base nos estudos de Bezerra *et al.* (2008) e Ferreira *et al.* (2004). Essa ferramenta estatística enquadra-se dentro das metodologias de superfície de resposta existentes, permitindo que numerosas variáveis estudadas sejam simultaneamente otimizadas de forma mais econômica e objetiva (Bezerra, 2003; Novaes *et al.*, 2017). Os mínimos de concentração para AP e MP foram, respectivamente, 2 e 0,2 % (v/v), ao passo que os máximos foram 50 e 10. A agitação, por sua vez, foi mínima de 80 rpm e máxima de 200 rpm em agitador orbital com temperatura controlada (shaker, TECNAL TE-424). Utilizou-se um inoculo da *Chlorella vulgaris* previamente aclimatado em AP e em MP. A Tabela 2 ilustra as matrizes codificadas e decodificadas com três repetições no ponto central.

Tabela 2 – Matriz experimental (codificados e reais)

Ensaio	Manipueira (%)		AP (%)		Agitação (rpm)	
	Cod. ¹	Des. ²	Cod. ¹	Des. ²	Cod. ¹	Des. ²
1	1,000	10,0	0,000	26,0	0,000	140
2	0,500	7,6	0,866	50,0	0,000	140
3	0,500	7,6	0,289	34,0	0,817	200
4	-1,000	0,2	0,000	26,0	0,000	140
5	-0,500	2,7	-0,866	2,0	0,000	140
6	-0,500	2,7	-0,289	18,0	-0,817	80
7	0,500	7,6	-0,866	2,0	0,000	140
8	0,500	7,6	-0,289	18,0	-0,817	80
9	-0,500	2,7	0,866	50,0	0,000	140
10	0,000	5,1	0,577	42,0	-0,817	80
11	-0,500	2,7	0,289	34,0	0,817	200
12	0,000	5,1	-0,577	10,0	0,817	200
13(PC)	0,000	5,1	0,000	26,0	0,000	140
14(PC)	0,000	5,1	0,000	26,0	0,000	140
15(PC)	0,000	5,1	0,000	26,0	0,000	140

Cod.¹ valores codificados; Des.². Valores decodificados

Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Os resultados foram analisados no software *Statística 7.0*, na modalidade de “*central composite*”. Para avaliar a significância estatística dos efeitos individuais e de interação, utilizou-se o gráfico de Pareto, analisando o p-valor, bem como comparação entre os “F” tabelado e calculado. Os modelos preditivos foram originados de acordo com o princípio da parcimônia e as superfícies de resposta foram plotadas e analisadas.

3.4.2 Cinética de crescimento microalgal e extração de EPS

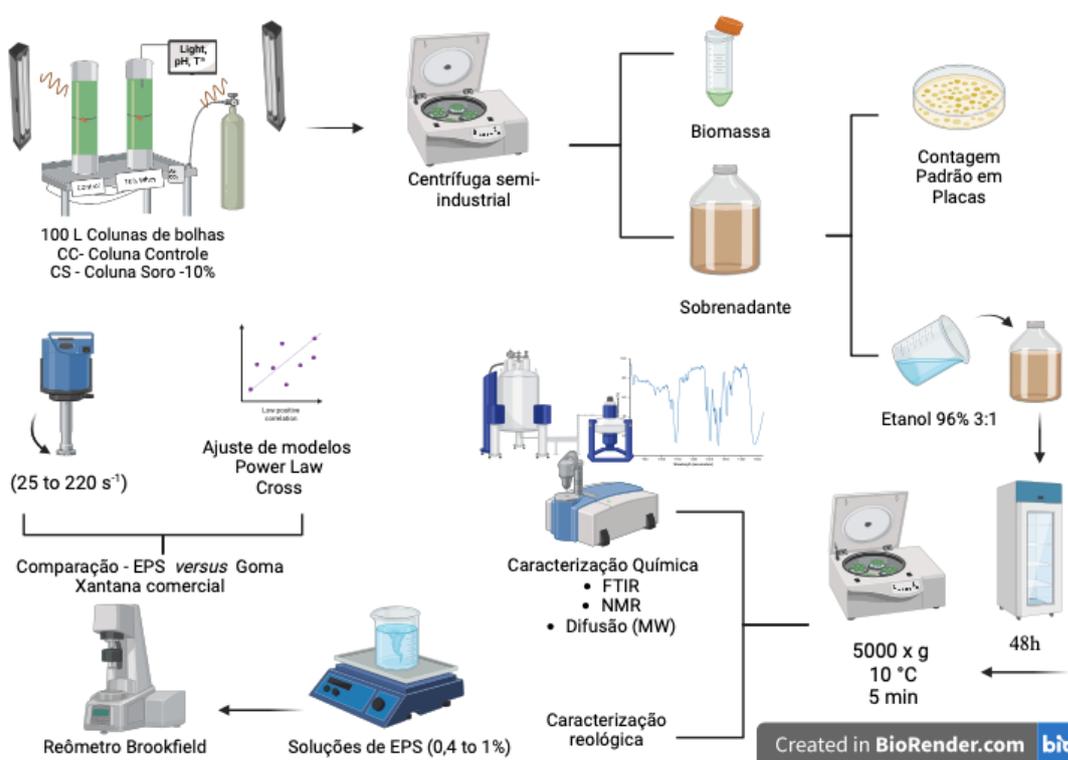
O cálculo dos parâmetros cinéticos foi realizado de maneira análoga à seção (3.3.3), assim como a finalização dos cultivos. À medida que os cultivos foram encerrados, os mesmos procedimentos foram empregados da seção (3.3.4). Neste bloco, o mesmo procedimento metodológico de extração considerado para os EPS (3.3.7).

3.5 CULTIVOS EM ESCALA PILOTO EM COLUNAS DO TIPO BOLHA

3.5.1 Preparação do inóculo e escalonamento

Chlorella vulgaris foi produzida na instalação de demonstração de microalgas SABANA localizada no centro de pesquisa IFAPA em Almería, Espanha (36°48'N, 43°W). A Figura 23 ilustra os passos metodológicos seguidos neste bloco.

Figura 23 – Quinto bloco de experimentos realizados na Universidade de Almería em escala piloto



Fonte: Elaborada pelo autor (2023)

O inóculo foi preparado em frascos de 5L controlados por pH sob iluminação (200 ± 50 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) com injeção de ar, enquanto mantinha uma temperatura de 22 ± 2 °C. O meio de cultura para o inóculo foi preparado usando água doce e fertilizantes comerciais ($0,03$ g L⁻¹ de Karentol®, $0,18$ g L⁻¹ de MgSO₄·7H₂O, $0,14$ g L⁻¹ de KH₂PO₄ e $0,9$ g L⁻¹ de NaNO₃). Após o crescimento do inóculo em condições laboratoriais, foi transferido para fotobiorreatores de coluna de bolhas de 100 L, conforme indicado em Sánchez-Zurano *et al.* (2024). Os fotobiorreatores consistiam em duas colunas de bolhas, com altura de 2 m e diâmetro de 0,25 m. As colunas de bolhas foram artificialmente iluminadas usando luzes LED, fornecendo uma

irradiância média de $160 \pm 100 \mu\text{mol f\acute{o}tons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ dentro dos fotobiorreatores. O ciclo luz foi definido em 12 h:12 h, e a câmara de ar manteve uma temperatura controlada de $25,0 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$. Duas condições foram testadas no experimento: coluna controle (100% de água doce e fertilizantes químicos) e coluna-soro (90% de água doce com fertilizantes químicos e 10% de soro de leite), doravante denominadas (CC e CS), respectivamente. O soro de leite utilizado foi descrito por Sánchez-Zurano *et al.* (2024), produzido manualmente usando leite não pasteurizado e 5% de ácido acético (m/v). Após a adição do ácido acético, o leite coagulou rapidamente e foi filtrado através de um filtro de 300 μm para obter o soro de leite final. Os experimentos foram realizados em modo batelada. Após a conclusão de uma batelada, a biomassa foi colhida por centrifugação usando uma centrífuga semi-industrial (GEA Westfalia Separator, Oelde, Alemanha), e os sobrenadantes foram coletados em garrafas esterilizadas de 20 L e armazenados a $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ até análises posteriores. A Figura 24 retrata as duas colunas trabalhadas neste bloco.

Figura 24 – Reatores de colunas de bolhas com controle automático para a produção de *Chlorella vulgaris* e a centrífuga semi-industrial



Fonte: Elaborada pelo autor (2023)

3.5.2 Métodos analíticos - Detecção e quantificação de bactérias

O número de bactérias presentes nos cultivos foi avaliado usando a Contagem Padrão Aeróbia (APC), anteriormente conhecida como contagem padrão em placas. A presença de bactérias no meio de cultura e no sobrenadante (após remoção da biomassa) foi determinada de

acordo com a ISO 4833 (ISO 4833-1; 2013). Ágar PCA (PanReac AppliChem, Barcelona, Espanha) também foi usado. A incubação foi realizada por 48 h a 30 °C. As amostras foram diluídas em uma escala decimal de 10^{-6} usando PBS. Cada diluição foi inoculada em triplicata em placas de Petri estéreis descartáveis.

3.5.3 Extração, quantificação e caracterização reológica do EPS

As extrações dos EPS foram similares às realizadas na seção (3.3.7), salvo a concentração do etanol, que foi utilizado 96%. As propriedades reológicas da solução de EPS e goma xantana comercial foram avaliadas. Soluções de EPS (0,4-1% (m/v)) foram preparadas usando água destilada. O intervalo de concentração escolhido serviu para dois propósitos: primeiro, para confirmar que uma baixa concentração de EPS era suficiente para induzir uma mudança reológica na solução e, segundo, para identificar a concentração na qual houve uma alteração de pelo menos uma ordem de magnitude na viscosidade. As soluções foram agitadas por 2 h para garantir a completa dissolução e mantidas a 4 °C por 24 h antes dos testes. A caracterização reológica das soluções foi realizada usando um viscosímetro Brookfield DV-II + Pro (Brookfield, Middleboro, MA, EUA), cobrindo uma faixa de taxas de cisalhamento entre 14,7 e 220 s^{-1} . O viscosímetro foi equipado com quatro fusos cilíndricos (LV1, LV2-CYL, LV3-CYL e LV4), um Adaptador de Amostra Pequena (SSA) e um adaptador de viscosidade ultrabaixa (ULA). O dispositivo ULA, que requer um volume de amostra de 16 mL, foi usado para os testes reológicos realizados a 25 °C. A temperatura foi controlada usando um banho termostático P Selecta TECTRON 200 (Barcelona, Espanha), com circulação interna e externa. Por outro lado, o pó de Goma Xantana Comercial (CXG) foi adquirido da HSN S.L (Granada, Espanha).

3.5.4 Ajuste de dados aos modelos e análise estatística

O modelo de reologia a ser utilizado para descrever a viscosidade das soluções de EPS foi determinado através da comparação entre dois modelos: Power Law (Eq. 15) e Cross (Eq. 17). O objetivo foi identificar qual deles melhor se ajustava aos dados experimentais. O desempenho desses modelos reológicos foi avaliado utilizando o erro quadrático médio (RMSE). O RMSE é definido como a média do quadrado da diferença entre os valores previstos e os valores medidos. Portanto, um valor de RMSE menor indica um erro menor entre os valores preditos e os experimentais, conforme segue:

$$RSME = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\mu_p - \mu_{exp})^2}{n}} \quad (16)$$

Onde (μ_p) é o valor previsto, (μ_{exp}) é o valor medido, e (n) é o número de pontos experimentais. A equação de Cross é um modelo reológico adequado frequentemente utilizado para descrever a viscosidade de soluções poliméricas ou de polímeros entrelaçados:

$$\mu = \frac{\mu_0 + \mu_{\infty} \cdot \alpha \gamma^n}{1 + \alpha \gamma^n} \quad (17)$$

Onde (γ) representa a taxa de cisalhamento, (μ_0) é a viscosidade em uma taxa de cisalhamento próxima de zero, (μ_{∞}) é a viscosidade em uma taxa de cisalhamento infinita, “ n ” é o índice de comportamento de fluxo (α) é o índice de consistência com a dimensão de (s^n). Note que, para o caso do modelo de Cross, há uma diferença em relação ao fator “ n ” do modelo de Power Law. A pseudoplasticidade em Cross também é determinada pelo expoente (n) na equação reológica. Contrariamente ao Power Law, um valor menor de (n), aproximando-se de zero, caracteriza líquidos com comportamento Newtoniano, enquanto líquidos que exibem o comportamento mais pseudoplásticos tendem a ter valores de (n) próximos de um. Nesse contexto, para facilitar a compreensão da comparação entre os modelos, o parâmetro (“ $n_{equivalente}$ ”) pode ser calculado pela seguinte equação:

$$n_{equivalente} = (1 - n_{cross}) \quad (18)$$

Os parâmetros do modelo de cross foram determinados analiticamente e graficamente seguindo o procedimento descrito por Xie e Jin (2016).

3.5.5 Caracterização química dos EPS

Para a caracterização química-estrutural, foram utilizadas espectroscopias de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e de ressonância magnética nuclear (NMR). As amostras de EPS foram analisadas por espectroscopia FTIR (Bruker Alpha, EUA) no intervalo de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} e 64 varreduras por espectro,

utilizando um acessório ATR de reflexão total atenuada com cristal de diamante. As amostras foram analisadas antes e após a liofilização para investigar possíveis diferenças substanciais no pico do grupo hidroxila -OH. Os dados foram obtidos e analisados utilizando o software OPUS com o modelo de integração de picos para averiguar a semelhança química entre as amostras de EPS provenientes da CC, CS e GX.

Em relação à NMR, os espectros foram registrados a $293 \pm 0,1$ K em um espectrômetro Bruker Avance III 600, operando a uma frequência de próton de 600,13 MHz, utilizando uma sonda criogênica de ressonância quádrupla com gradiente de campo de pulso de 5 mm. O transmissor do espectrômetro foi ajustado para a frequência do D₂O. Os espectros foram adquiridos e processados utilizando o software TOPSPIN (versão 3.6.2). Os deslocamentos químicos de ¹H e ¹³C foram referenciados em relação ao tetrametilsilano (TMS). A amostra de NMR foi preparada adicionando 35 mg de EPS a 0,6 mL de D₂O, e o filtrado foi transferido para um tubo de NMR de 5 mm seco em estufa. Aproximadamente 44% do sólido de EPS foi dissolvido com sucesso, e a porção dissolvida foi subsequentemente analisada.

3.5.6 Predição da massa molecular por Difusão via RMN

Uma técnica prática para a determinação da massa molecular, isenta da utilização de solventes e de exaustivos tempos de análise, é a predição por meio de algoritmos que partem dos espectros de RMN, a chamada “Difusão via RMN”. Embora esta técnica tenha sido utilizada nos últimos anos para diferentes biopolímeros, para o estudo de EPS de microalgas é um ineditismo deste trabalho. Neste sentido, as amostras foram preparadas dissolvendo-se 0,65 mg de EPS em 0,5 mL de D₂O em tubos de NMR de 5 mm previamente secos em estufa. Os parâmetros Δ e δ foram ajustados entre 100 e 150 ms e entre 5 e 9 ms, respectivamente. A força do gradiente foi variada em incrementos de 4%, começando em 8% e alcançando até 96%, resultando em um total de 23 pontos para realizar a inversão da transformada de Laplace (ILT). O tempo de recuperação foi mantido consistentemente em 5 segundos. Cada incremento envolveu 128 varreduras, com durações experimentais típicas de aproximadamente 8 horas. Todas as medições foram realizadas sem rotação. Para garantir a reprodutibilidade e eliminar efeitos de convecção, foram realizadas três medições separadas com diferentes valores de Δ (Barbosa *et al.*, 2016). A convecção mostrou ter um efeito negligível nos coeficientes de difusão calculados, pois esses valores permaneceram estáveis nos diferentes tempos de difusão testados.

As medições de difusão por PGSE NMR utilizaram a sequência de eco estimulado combinada com pulsos de gradiente bipolares (Wu; Chen; Johnson, 1995). Os pulsos de

gradiente foram aplicados utilizando uma forma retangular suavizada (SMSQ) e foram ajustados automaticamente em força ao longo dos experimentos. Os coeficientes de difusão (valores de D) foram extraídos da inclinação da linha de regressão que plota $\ln(I/I_0)$ contra G^2 . Esta abordagem de regressão lineariza a ILT com base na equação de Stejskal-Tanner para pulsos de gradiente SMSQ (Eq.19) (Sinnaeve, 2012), onde I/I_0 representa a razão da intensidade do eco de spin observado para a intensidade sem gradientes, G é a força do gradiente, Δ é o intervalo entre os pontos médios dos pulsos de gradiente, D é o coeficiente de difusão, δ é a duração do gradiente, τ é o tempo de recuperação do gradiente e a duração do pulso de 180° .

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = -(\gamma\delta)^2 \left(\Delta - \frac{6.344\pi^2 - 207}{19.44\pi^2} \delta - \frac{\tau}{2} \right) D \frac{81}{100} G^2 \quad (19)$$

Os ajustes LMS foram realizados com o auxílio do pacote DiffAtOnce, um programa registrado e desenvolvido na Universidade de Almería, em 2013 (Arrabal-Campos; Oña-Burgos; Fernández (2016). A equação de Stejskal-Tanner, conforme referenciada na Eq. 19, pode ser reformulada como uma equação integral imprópria conhecida como transformada de Laplace (LT), conforme mostrado na Eq. 20. Esta transformação representa o valor máximo para uma dada frequência e facilita a conversão da distribuição do coeficiente de difusão ($A(D)$) do domínio de difusão para o domínio de Laplace. O valor de Δ' indica o tempo de difusão ajustado com base na sequência de pulsos aplicada durante os experimentos de difusão.

$$LT\{A(D)\} = \int_0^\infty A(D) e^{-(\gamma\delta)^2 G^2 D \Delta'} dD \quad (20)$$

Para obter uma distribuição contínua dos valores de D ($A(D)$) a partir da Eq. 20, é necessário realizar uma ILT (Transformada Inversa de Laplace) não-linear. Diversos algoritmos foram aplicados para este fim. As soluções dART foram obtidas utilizando uma técnica de reconstrução algébrica (Arrabal-Campos; Aguilera-Sáez; Fernández, 2019). As soluções TRAI foram obtidas utilizando o algoritmo fornecido por Xu e Zhang (2014), com o parâmetro de esparsidade ajustado para 1,05. Ambos os métodos utilizaram o espaço de Hilbert derivado do núcleo exponencial.

Os espectros NMR de DOSY (espectroscopia ordenada por difusão) foram gerados com os algoritmos de separação alternada de direção esparsa e de baixa rank (ADSpLRU) relatados

por Giampouras *et al.* (2016) e aplicados pela primeira vez na resolução de mapas DOSY por Yuan *et al.* (2017), denominados SILT-DOSY.

De acordo com Arrabal-Campos; Oña-Burgos; Fernández (2016), a relação entre o peso molecular e o coeficiente de difusão é determinada utilizando uma curva de calibração universal independente do solvente. Esta curva, em combinação com o SILT-DOSY, permite a transformação dos valores de D em estimativas de Mw, criando um tipo de espectroscopia ordenada por peso molecular (MOSY).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ANÁLISE GLOBAL DE LACUNAS E TENDÊNCIAS TECNOLÓGICAS DO MERCADO DE BIORREFINARIA À BASE DE MICROALGAS EM EFLUENTES INDUSTRIAIS

4.1.1 Recuperação de dados mundiais e evolução temporal

Conforme observado no Quadro 6, a combinação de “*microalgae*” e código IPC “C02F3” foi escolhida devido à especificidade do conteúdo incluído e número de patentes encontrada.

Quadro 6 – Tabela de escopo

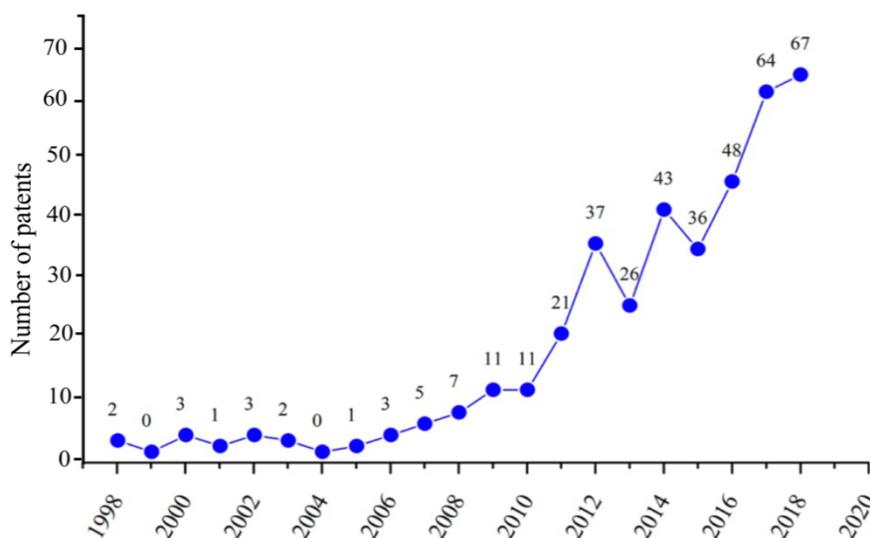
<u>Microalgas</u>	<u>Biorrefinaria</u>	<u>C02</u>	<u>C02F3</u>	<u>C12</u>	<u>Total</u>
<u>X</u>					<u>5873</u>
<u>X</u>		<u>X</u>			<u>688</u>
	<u>X</u>				<u>238</u>
<u>X</u>				<u>X</u>	<u>299</u>
<u>X</u>			<u>X</u>		<u>422</u>
<u>X</u>			<u>X</u>	<u>X</u>	<u>217</u>

Fonte: Elaborados pelo autor com base no Espacenet. C02: Water & effluent treatment (physical, chemical, and biochemical); C02F3: (biochemical effluent treatment); C12: (biochemistry and microbiology)

Dos 422 documentos recuperados da Espacenet, apenas 391 estavam disponíveis para consulta, pois os demais ainda estavam no período de confidencialidade que perdura 18 meses. Por outro lado, usando a mesma combinação de palavras no Orbit®, foram encontrados 664 documentos, dos quais 204 eram patentes vencidas.

A Figura 25 ilustra as mudanças no número de documentos associados às inovações de biorrefinarias à base de microalgas acopladas ao tratamento de efluentes (BBMTE) nos últimos 20 anos, indicando a dinâmica da inventividade neste campo.

Figura 25 – Evolução temporal do depósito de patentes entre de 20 anos (1998-2018)



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

De 1998 a 2005, o desenvolvimento dessa tecnologia foi estável, com uma média de aproximadamente dois documentos por ano. Os dados de 2006 revelaram um aumento com média de sete documentos por ano, indicando avanços no desenvolvimento dessa tecnologia. Essa tendência pode estar associada à terceira crise do petróleo (2003-2008), quando o preço do barril de petróleo aumentou quase cinco vezes (Kesicki, 2010). Paralelamente, no mesmo período, as microalgas foram apontadas como uma fonte viável de biocombustíveis, o que motivou grandes empresas de energia a se interessarem e investirem na descoberta do potencial biotecnológico das microalgas. Em 2007, Nozaki *et al.* (2007) investigaram e expressaram a sequência genômica de microalgas, despertando o interesse da comunidade científica em realizar novas pesquisas nesta área com base nas informações recém-adquiridas.

Garrido-Cardenas *et al.* (2018) demonstraram que o número de trabalhos científicos publicados teve um aumento vertiginoso a partir de 2006, análogo ao comportamento dos documentos de patentes apresentados na Figura 25. No âmbito das patentes, o período de 2010 a 2011 manteve-se constante com média de 11 documentos; entretanto, entre 2011-2018, a média de documentos foi de 43. Esse valor foi 20 vezes maior do que no início do século e pode estar atrelado à busca de alternativas para atender às demandas estipuladas em eventos globais de desenvolvimento sustentável, como COP18–24 (2012–2018), RIO+20 (2012) e a criação do nexu “água-alimento-energia” em 2011. Um segundo fator para esta tendência poderia estar associado ao desenvolvimento de políticas internas em cada continente. Notavelmente, o Mercado Comum Europeu adotou uma estratégia ambiciosa para o desenvolvimento de uma

bioeconomia baseada no uso de recursos sustentáveis para atender às crescentes demandas nos setores alimentício, energético e industrial. Essa iniciativa de “economia verde” visa atenuar as emissões, aumentar a eficiência e o uso dos recursos naturais e evitar a perda de biodiversidade até 2050 (Scarlat *et al.*, 2015). Os Estados Unidos, por meio do *Energy Independence and Security Act* (EISA-2007), ofereceram apoio financeiro para atividades de pesquisa e desenvolvimento (P&D) voltadas à produção de combustíveis renováveis, incluindo biomassa de algas como matéria-prima (United States Congress, 2007). Procuraram reduzir a dependência do petróleo e avançar para uma maior segurança energética.

No geral, há um crescente interesse global de P&D no desenvolvimento e aplicação do BBMTE. Isso fica evidente pelo aumento significativo do número de patentes e trabalhos científicos sobre o tema, principalmente após 2011 (marco-chave do período). Além disso, as políticas energéticas e ambientais tendem a acelerar essa tendência, promovendo mais orçamentos de P&D. Enquanto um perfil estável é sinal de maturidade do setor, um setor com crescimento intenso é indicativo de uma corrida por patentes para superar entraves antes de atingir a fase de comercialização industrial.

4.1.2 Modelagem do ciclo de vida tecnológico

Os dados estatísticos de ajuste aos modelos de crescimento, mostrados na Tabela 3, revelaram que, com exceção do BoltzIV e Richards, os dados cumulativos de patentes apresentaram bons ajustes aos outros modelos testados ($R^2 > 0,99$). Dentre os modelos bem ajustados e significativos para o teste F ($p < 0,01$), o modelo Gompertz apresentou elevada correspondência com os dados (99,89%) e maior F-valor (6558,14), comprovando que os quadrados médios do modelo são maiores do que os do resíduo e, portanto, mais significativos perante os outros.

Tabela 3 – Ajuste do número acumulado documentos a modelos de crescimento sigmoide

Model	F-value	P-value	R ²
BoltzIV	22,89	<0.01	0.7012
DoseResp	5412,40	<0.01	0.9985
BiDoseResp	5799,47	<0.01	0.9992
Logistico	5429,20	<0.01	0.9985
Gompertz	6558,14	<0.01	0.9989
Richards	28,45	<0.01	0.7528

Fonte: Elaborada pelo autor (2021)

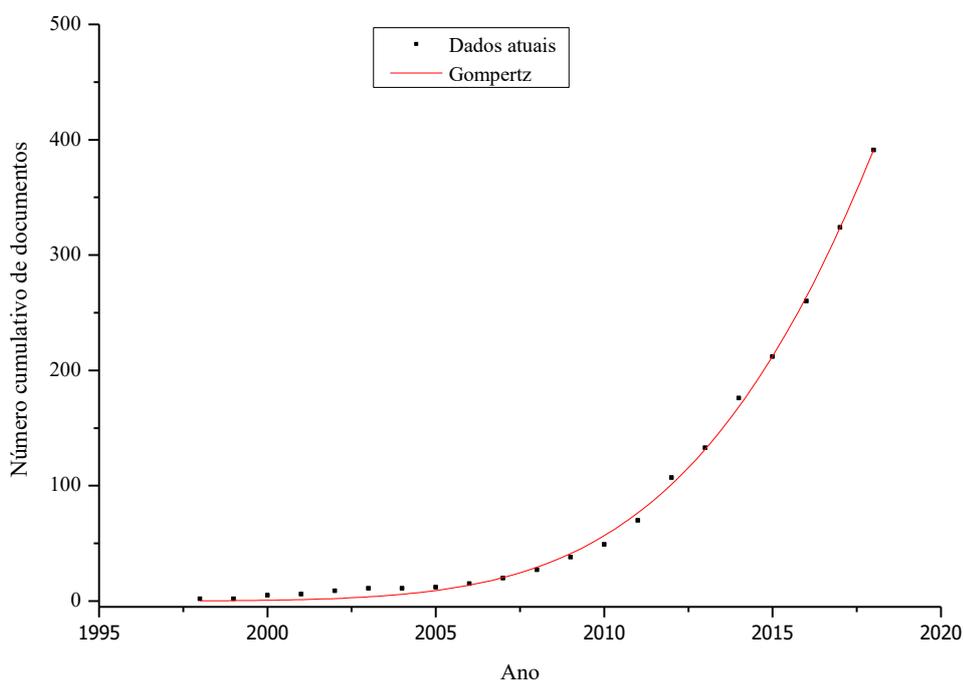
O modelo Gompertz, representado na Equação 21, é bastante utilizado para o crescimento de plantas e caracteriza-se por apresentar um comportamento sigmoide, de acordo com sua taxa de crescimento.

$$PD = \alpha e^{-e^{-k(x-x_c)}} \quad (21)$$

Onde, PD é número cumulativo de documentos de patentes; α é o valor assintótico na superior do modelo; x está relacionado com a abcissa do ponto de inflexão; k é o índice de maturidade do modelo e X é a variável independente (anos).

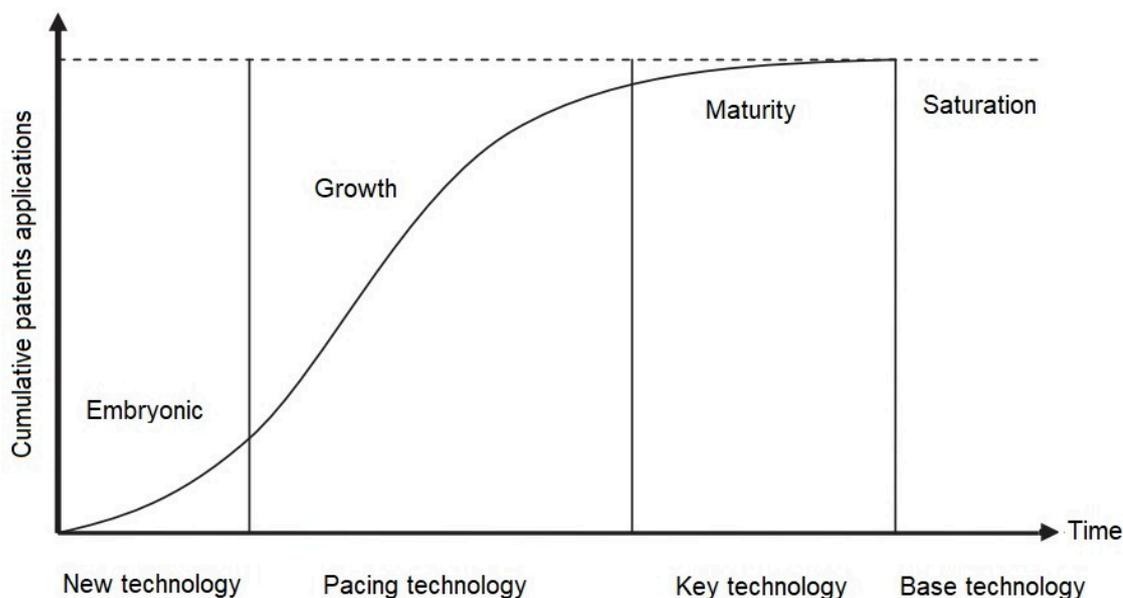
O ajuste da trajetória tecnológica das patentes de BBMTE do modelo *Gompertz* (Figura 26) permitiu a identificação dos estágios de desenvolvimento da tecnologia mediante a comparação dos resultados com a curva S (Figura 27).

Figura 26 –Modelagem matemática dos dados cumulativos de patentes



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Figura 27 – Curva S típica do ciclo de vida de tecnologias



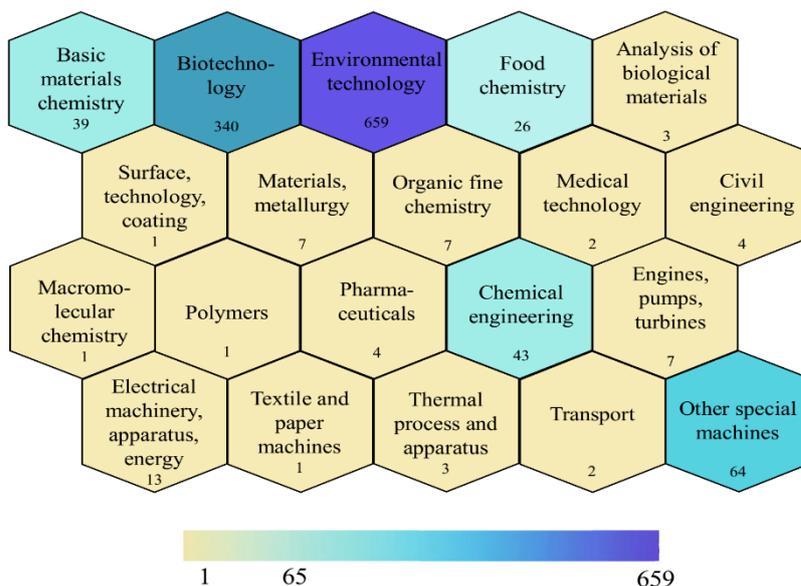
Fonte: Carvalho (2022)

O comparativo das curvas mostradas nas Figuras 26 e 27 indica que o desenvolvimento de tecnologias relacionado às BBMTE se encontra na fase de crescimento. Estudos apontam que tecnologias no estágio de crescimento são promissoras e com alto impacto competitivo, mas ainda não foram integradas em novos produtos ou processos. As empresas com forte solidez de capital e capacidades técnicas devem participar desta etapa e desenvolver produtos diferenciados para conquistar o mercado (Gao *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2021).

4.1.3 Principais domínios tecnológicos

Os portfólios de patentes podem ser divididos em diferentes domínios. A Figura 28 mostra os domínios tecnológicos predominantes das patentes prospectivas, onde uma única patente pode estar vinculada a mais de um segmento. Os setores ambientais (659 documentos) e biotecnológicos (340 documentos) têm as maiores contribuições, o que evidencia o reconhecimento do potencial biotecnológico das microalgas por muitos países. Todas as patentes prospectadas na presente análise estão, portanto, relacionadas ao domínio tecnológico que incide sobre o meio ambiente.

Figura 28 – Panorama dos domínios tecnológicos



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

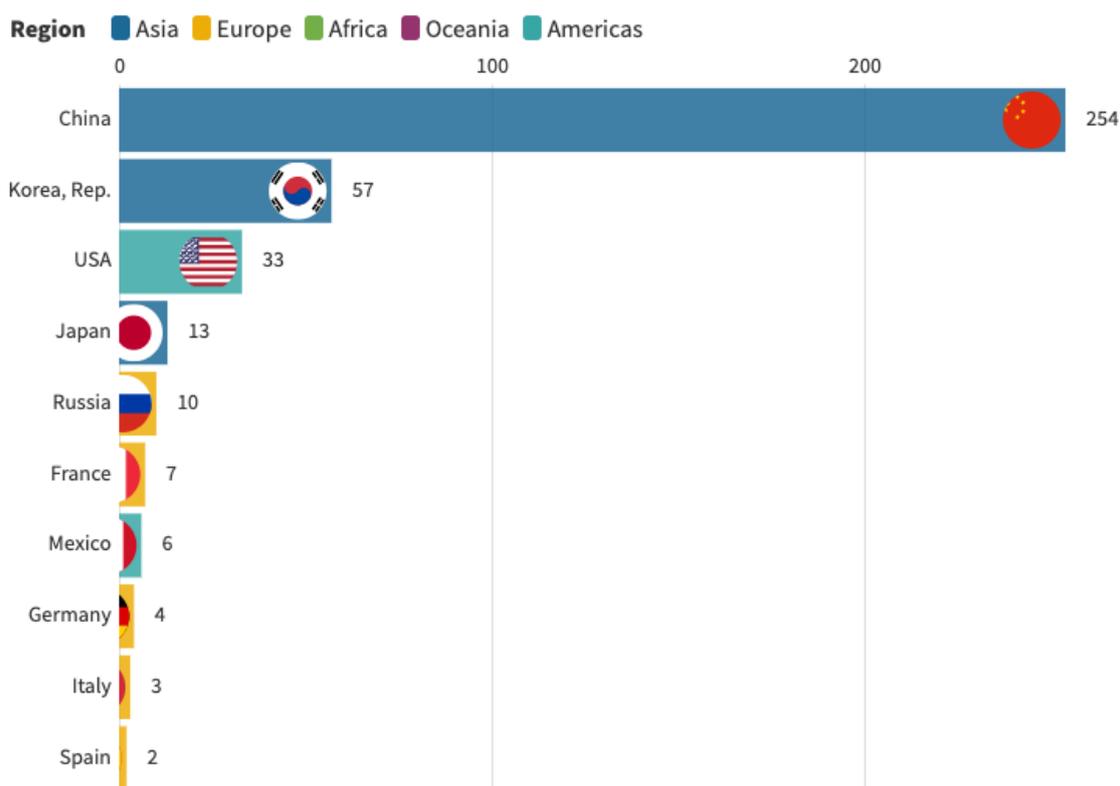
A heterogeneidade entre os domínios tecnológicos pode ser compreendida por dois vieses: (i) a interdisciplinaridade técnica envolvida no processo de biorremediação de efluentes; e (ii) os bioprodutos de alto valor agregado que podem ser obtidos e aplicados em setores industriais, como alimentos (exopolissacarídeos e proteínas), farmacêutico e cosmético (ficocianina e lipídios), biocombustíveis (lipídios e carboidratos) e materiais (polihidroxialcanoatos). Como as pequenas empresas baseadas em microalgas crescerão nos próximos anos, entender os domínios tecnológicos predominantes por meio do aprendizado de fontes externas pode orientá-las em seu processo inicial. Nesse contexto, setores menos eminentes são lacunas para P&D, pois são oportunidades para explorar e iniciar novas tecnologias, enquanto os campos mais notáveis tendem a indicar produtos e processos potenciais para comercialização (Thavorn *et al.*, 2020). Deve-se considerar que os investimentos nesta área estão crescendo numa velocidade sem precedentes, haja vista as projeções realizadas em que o mercado global de microalgas atingirá US\$ 1,143 bilhão até 2024, expandindo-se a uma taxa de crescimento anual de 7,39% (Yellapu *et al.*, 2019).

4.1.4 Cobertura geográfica

A análise da Figura 29 revela que do total de documentos de patentes recuperadas, 65% são provenientes da China, 15% da Coreia do Sul, 8% dos EUA, estando os restantes

distribuídos pelos restantes países. Essa tendência não é a mesma para o número de artigos de pesquisa relacionados a tecnologias envolvendo microalgas. Conforme enfatizado por Garrido-Cardenas *et al.* (2018), embora o desenvolvimento da tecnologia seja principalmente na China, os EUA estão em primeiro lugar em termos de publicações científicas, demonstrando que a China está mais focada no desenvolvimento de tecnologias com aplicações de mercado.

Figura 29 – Países vanguardistas no depósito de tecnologias



Fonte: Elaborada pelo autor (2021)

Além de ser o país mais populoso do mundo, a China tem vários desafios que podem justificar o investimento maciço em tecnologias BBMTE. Tem terras aráveis limitadas para a produção de alimentos, uma vez que a desertificação é generalizada em muitas áreas (Feng *et al.*, 2015). Embora a pecuária tenha aumentado, a terra disponível para pastagem diminuiu (Wang *et al.*, 2013).

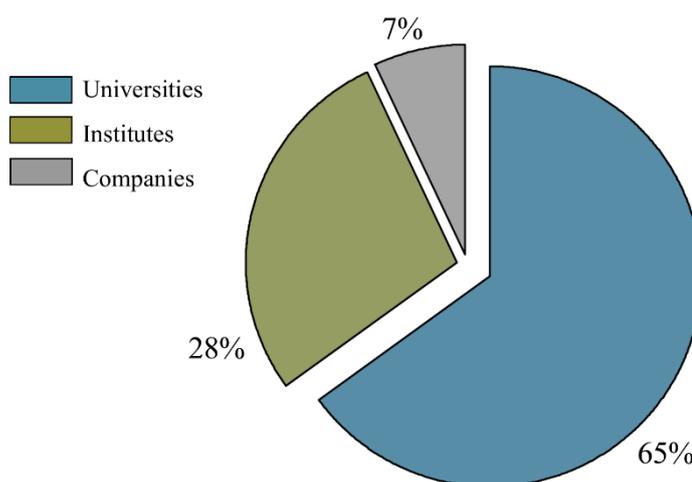
Apesar de seu alto consumo de energia, a China também sofre com reservas limitadas de petróleo, falta de água doce e poluição ambiental (Li *et al.*, 2015). Como alternativa às reservas de petróleo, Zhao e Yan (2012) afirmaram que o Ministério da Ciência e Tecnologia chinês está liderando um projeto de desenvolvimento de energia de biomassa como prioridade governamental, disponibilizando recursos significativos nesta área. Nesta economia verde

emergente, as finanças públicas desempenham um papel importante ao lidar com a natureza de alto risco e incerteza do processo de inovação, que leva tempo para desenvolver novas tecnologias. Mazzucato (2015) argumenta que uma “revolução verde” dependerá de governos proativos que tenham uma mentalidade empreendedora. Isso se refere à disposição do estado de investir em áreas incertas, vislumbrando as mudanças nos órgãos públicos e departamentos governamentais e na coalizão público-privada (Mazzucato, 2015). O Brasil, que infelizmente asfixiou o investimento público nos últimos anos, tem-se afastado do debate dessa revolução verde e não figura entre os países que mais desenvolvem tecnologias na área de BBMs, a despeito do seu extraordinário potencial.

4.1.5 Perfil das instituições e principais candidatos

Conforme indicado na Figura 30, não há inventores independentes envolvidos no desenvolvimento da tecnologia prospectada. As universidades são responsáveis por uma parte significativa, contribuindo com 65% dos documentos. Os institutos de pesquisa representam 28%, enquanto as empresas contribuem com apenas 7%. Deve-se considerar que parcerias entre empresas e universidades ou institutos de pesquisa podem ser relevantes para o desenvolvimento de patentes, uma vez que as empresas poderão fornecer financiamento e diferentes efluentes e resíduos necessários para a sua cadeia produtiva e essa sinergia, por sua vez, poderá criar maior competitividade sistêmica para o arranjo econômico, em um novo redesenho de economia circular.

Figura 30 – Composição das instituições



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Outro fator notável para a produção de 65% deve-se à mudança do papel das universidades nas últimas décadas. Dentro do paradigma da economia do conhecimento, as universidades têm alterado sua antiga missão de criar e fornecer conhecimento para instituições mais empreendedoras. Este modelo desempenha um papel reforçado na inovação tecnológica ao incorporar duas novas tarefas: a comercialização do conhecimento e a contribuição ativa para o desenvolvimento das empresas locais e regionais. Notavelmente, escritórios de transferência de tecnologia (TTOs) estabelecidos por universidades podem fornecer modelos de negócios e explorar parcerias locais (e.g., capital de risco, empreendedores, empresas) para comercializar inovações e gerar receitas.

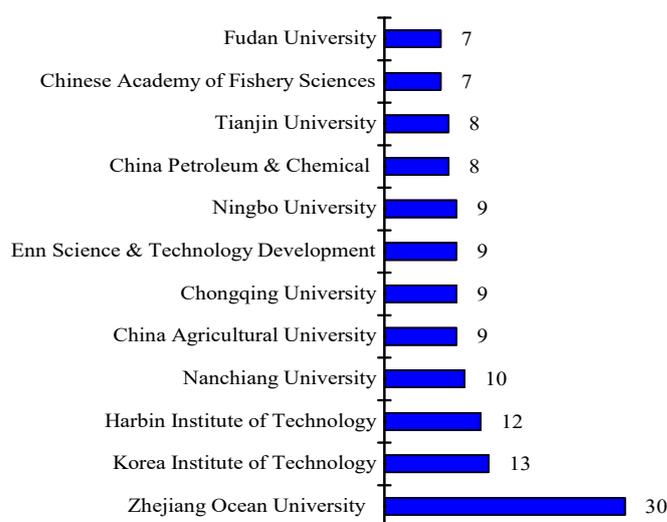
Cabe salientar a compreensão da cadeia de inovação (da pesquisa básica à comercialização) existente na dinâmica atual do mercado. Phaal *et al.* (2012) fornecem uma estrutura para entender as fases das tecnologias emergentes, dividindo-as em cinco estágios que são precedidos pela maturidade tecnológica. Essas fases são (i) dominadas pela ciência (precursora), (ii) dominadas pela tecnologia (embrionárias), (iii) dominadas pelas aplicações (nutrição) e (iv) dominadas pelo mercado (crescimento) (Phaal *et al.*, 2012). Segundo os autores, à medida que essa cadeia avança, o risco associado às incertezas comerciais diminui, ocorre o desenvolvimento tecnológico e há uma tendência de deslocamento de fundos e controles, geralmente de universidades, transitarem para pesquisa e desenvolvimento em nível industrial. No entanto, conforme demonstrado na Figura 30, as patentes de institutos de pesquisa ainda são menos da metade do percentual obtido de universidades (28%), e as empresas representam apenas uma pequena parte (7%). Isso pode indicar que as tecnologias que englobam o MBBET ainda estão longe de atingir a fase de maturidade e o estágio final de domínio do mercado.

Por se tratar de um setor multidisciplinar que engloba diferentes tipos de tecnologias em diferentes níveis, é desafiador caracterizar com precisão o estágio em que o grupo MBBET se encontra atualmente. Pode ser colocado na transição para a fase de criação, uma vez que há melhorias no desempenho e no custo que precisam ser feitas para atingir todo o seu potencial e se transformar em produtos e serviços rentáveis.

Com os novos paradigmas para alcançar a sofisticação tecnológica no século atual, as universidades vêm desempenhando um papel importante no avanço da pesquisa de microalgas, fornecendo soluções para empresas, especialmente na China e na Coreia do Sul. Espera-se que este quadro possa ser ampliado globalmente, especialmente nos países em desenvolvimento.

Para examinar mais detalhadamente as várias instituições contribuintes, os 12 principais desenvolvedores do grupo MBBET são apresentados na Figura 31. Essa figura lista os principais inventores em universidades, institutos de pesquisa e empresas, fornecendo um grau de internacionalização no portfólio de patentes.

Figura 31 – Perfil das principais instituições depositantes



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

A universidade chinesa *Zhejiang Ocean University* detém 16% das patentes mundiais nesta área e é 2,3 vezes mais do que o segundo colocado, o Instituto Coreano de Ciência e Tecnologia. Vale ressaltar que não há instituições americanas, francesas ou espanholas na lista, embora esses países publiquem muitos artigos científicos nessa área. A Coreia do Sul está listada como o décimo país em número de publicações científicas. No entanto, as Figuras 29 e 31 demonstram que elas são as segundas em desenvolvimento tecnológico. Dois aspectos devem ser destacados quando se trata da Coreia do Sul. Primeiro, eles têm uma cultura de inovação bem estabelecida por meio de uma relação colaborativa entre universidade, indústria e governo (UIG), conhecida como estrutura de hélice tripla (Yun; Lee, 2013). Na corrida para a industrialização, a criação do Instituto Avançado de Ciência e Tecnologia Coreano (KAIST) contribuiu substancialmente para o desenvolvimento tecnológico e crescimento econômico na Coreia (Wong, 2011).

O segundo ponto diz respeito aos programas nacionais “Biotech 2000” e “Bio-Vision 2016”, liderados, respectivamente, em 1994 e 2006 pela Coreia do Sul, tornando-se um dos maiores produtores de biotecnologia do mundo (Wong *et al.*, 2004; Hyeon *et al.*, 2008). Coréia e China são países eminentes no desenvolvimento de tecnologias no setor de MBBET e têm dois aspectos em comum: um ecossistema de inovação baseado na colaboração entre iniciativas públicas e privadas e um projeto de desenvolvimento tecnológico robusto e nacional.

Em geral, a o Quadro 7 resume as diferenças no perfil das tecnologias entre a Universidade de Zhejiang, KAIST e China & Petroleum, uma vez que são as principais instituições de cada categoria. A Universidade de Zhejiang, que se destaca entre as instituições, está focada principalmente no desenvolvimento de adsorventes à base de microalgas para tratar contaminantes distintos. O KAIST está centrado em dispositivos e métodos de tratamento para aproveitar a biomassa de microalgas, principalmente através da tecnologia de digestão anaeróbica.

Quadro 7 – Principais características das instituições vanguardistas

Institution	Type of patent	Features
Zhejiang Ocean University	Produtos e métodos	Bioadsorventes
Korean Institute of Technology	Produto e métodos	Novas cepas e tecnologia de digestão anaeróbica
China Petroleum & Chemical	Produtos e métodos	Cultivo de microalgas contínuo para aplicações industriais

Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Outra característica apresentada neste instituto é o desenvolvimento de novas cepas de microalgas, incluindo *Micractinium* sp., (KR101624176) e *Nephroselmis* sp. KGE1 (KR101799943). O segundo é um método de tratamento simultâneo de efluente industrial e cultivo de microalgas, visando o acúmulo de carboidratos, ou seja, na perspectiva do MBBET. A empresa China Petroleum & Chemical ainda tem pouca participação no portfólio de patentes, mas também possui dispositivos e métodos para o cultivo contínuo de microalgas ao tratar seus efluentes de processos industriais, como efluentes de baixo reuso ricos em ácido nítrico (CN109337820) e águas residuais ricas em nitrato (CN109467191), e a desnitrificação de gases de combustão sem catalisador (CN109939548). Embora o perfil dessas instituições possa

diferir, os três vieses tecnológicos (e.g., adsorventes ecológicos, novas cepas e dispositivos e métodos alinhados com MBBET) são relevantes para diferentes necessidades de mercado.

4.1.6 Análise dos efluentes

Tabela 4 – Segmentação dos efluentes

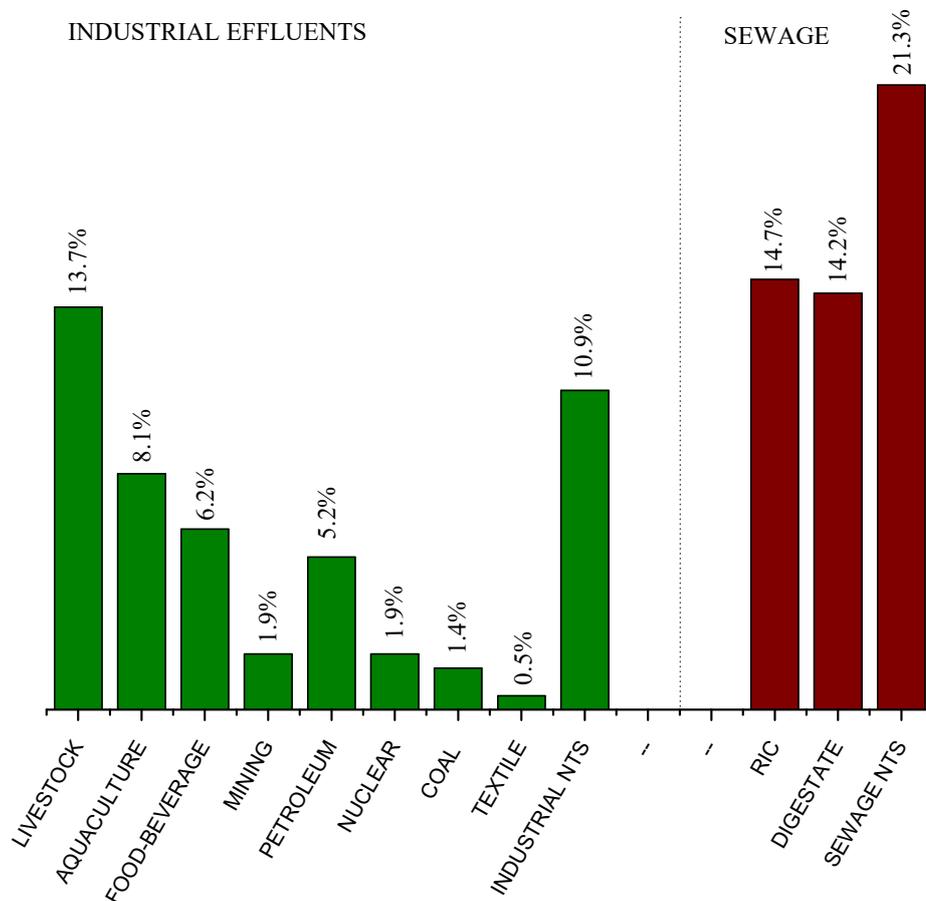
Água residuária	Número de documentos
N.T. S	116
Industrial	105
Esgoto	106
S.E. I	64

N.T.S: “não especificado”, S.E.I: “specific environmental issues”

Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

A Tabela 4 ilustra que a categoria N.T.S predomina sobre as demais, mas que as categorias industrial e esgoto são próximas, de modo que não se pode afirmar com clareza qual efluente predomina no campo dessas tecnologias. No entanto, a Figura 32 esmiúça sua variedade, onde esgoto aparenta se destacar. Cabe mencionar que as colunas “N.T.S. Industrial” e “N.T.S de Esgoto” referem-se às patentes em que o texto descrevia o efluente como proveniente de uma indústria específica, ou era apenas esgoto, respectivamente, sem especificar qual segmento. Moreno-Garcia *et al.* (2020) relataram o uso de um amplo espectro de efluentes como meio de cultivo de microalgas, o que convergiu com a prospecção de tecnologias realizadas no presente estudo, principalmente para efluentes digestato e da agricultura. No entanto, esses autores não incluíram efluentes de aquicultura ou reatores radioativos, ao contrário dos encontrados no presente estudo em termos de tecnologias. Ademais, concernente à AP, apenas uma patente de método foi encontrada (BRP10800141-3), da Petrobras, cujo enfoque reside na possibilidade de tratar dito efluente com as microalgas. Entretanto, nada é comentado sobre a valorização da biomassa remanescente.

Figura 32 – Percentual de distribuição dos segmentos de efluentes entre as categorias esgoto e industrial



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

No que diz respeito à pecuária, a maioria dos efluentes são provenientes da suinocultura na China (CN109467191, CN105985917, CN108991281, CN108892243, CN108249574 e CN107916226), bem como de uma mistura de efluentes provenientes da pecuária bovina e avícola (CN20347479, CN103086520, CN102161550A). Para a aquicultura, o efluente é da preparação de camarão (CN109601446). Com relação às indústrias de alimentos e bebidas, todas as patentes registradas também foram de produção na China para molho de soja (CN109626584), tofu (CN109621699, CN107760605), amido (CN10729962, CN104789603), e efluentes das indústrias de álcool ou bebidas (CN109337816, CN106867953, CN104556566). Esses efluentes são fontes dos principais nutrientes, como amônia (NH_4 – fonte de Nitrogênio) e fosfato (PO_4 – fonte de Fósforo). Os efluentes contendo amido também são vantajosos, pois são potenciais fontes de carbono para microalgas. Essa diversidade no uso indica como a China está engajada em aderir ao nexo “água-alimento-energia”, assim como a máxima da economia

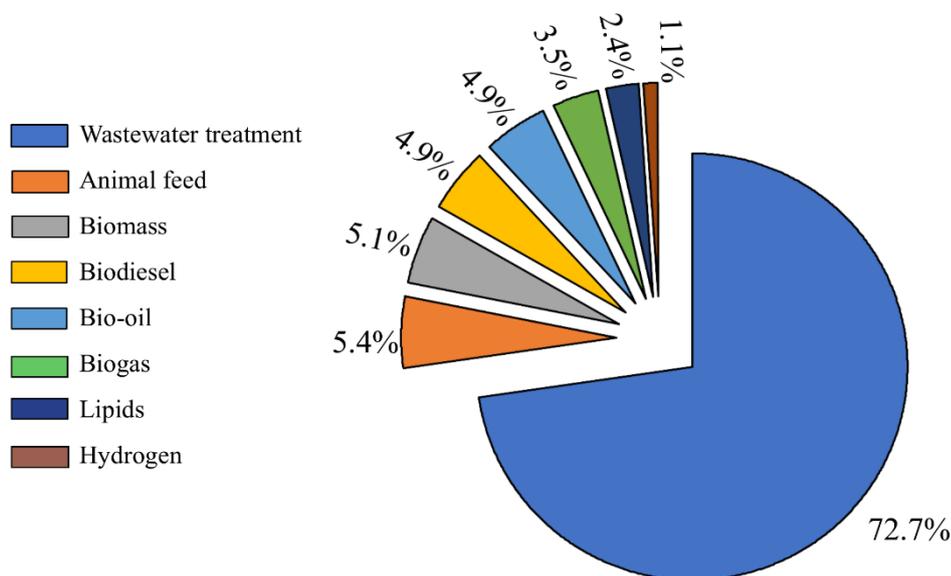
circular. O ocidente poderia aprender a agregar mais valor aos seus efluentes, espelhando-se nesses exemplos.

Por outro lado, os efluentes da indústria nuclear requerem atenção, pois a contaminação da água com compostos radioativos representa um relevante problema ambiental. A Coreia do Sul tem o maior número de documentos de patentes nesta área. As patentes (KR20190017447A-KR101556655B1-KR20170123044) tratam do desenvolvimento de um sistema para descontaminação de águas poluídas com compostos radioativos por meio de microalgas. Além da Coreia, uma patente desenvolvida na Espanha e protegida pela Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WO2014087030) consiste em um método de recuperação e enriquecimento de urânio por bioacumulação em microalgas geneticamente modificadas. Como as paredes celulares das microalgas contêm grupos carregados negativamente, a adsorção de compostos carregados positivamente, os metais pesados, torna-se um processo energeticamente favorável.

4.1.7 Perfil de aplicações de tecnologia

Verifica-se pela Figura 33 que a maioria dos documentos continha métodos focados apenas no tratamento de efluentes com microalgas. Ressalta-se que a biorrefinaria só pode ser alcançada se se aproveitar o potencial biotecnológico da biomassa de microalgas. A Agência Internacional de Energia (IEA) informa que a biorrefinaria ainda é um conceito em construção para ser plenamente realizado assim, a ausência de maior aproveitamento da biomassa de microalgas poderia ser uma evidência da incipiência das biorrefinarias no âmbito do desenvolvimento de tecnologias. No entanto, foram identificadas três possibilidades quanto à finalidade das patentes: (i) os métodos são focados em tratar a água para reciclá-la no processo, reduzindo os custos; (ii) as tecnologias foram desenvolvidas para solucionar desafios ambientais (floração de algas) ou remover metais pesados de corpos d'água poluídos; ou (iii) no conceito de biorrefinaria, as tecnologias visam simultaneamente tratar os efluentes e oferecer uma finalidade para a biomassa de microalgas.

Figura 33 – Distribuição das tecnologias por propósito



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Koyande *et al.* (2021), analisando algumas tendências do mercado de microalgas, apontaram que embora o foco dos últimos anos tenha sido nos biocombustíveis, estes estariam perdendo o primeiro lugar para outro mercado que também está em rápida expansão, o das proteínas (Koyande *et al.*, 2021). Conforme mostra a Figura 33, essa tendência parece ser uma realidade do ponto de vista do depósito de patentes.

A suplementação animal foi o segundo princípio de finalidade, principalmente nas áreas de pecuária e aquicultura. O documento (CN107487859) destaca o uso de microalgas no tratamento de água e seu posterior uso como aditivo para aves (fonte de proteína), enquanto o documento (PH12017500826) destaca o tratamento das águas de um aquário conjugado com seu uso como fonte de alimento para os peixes.

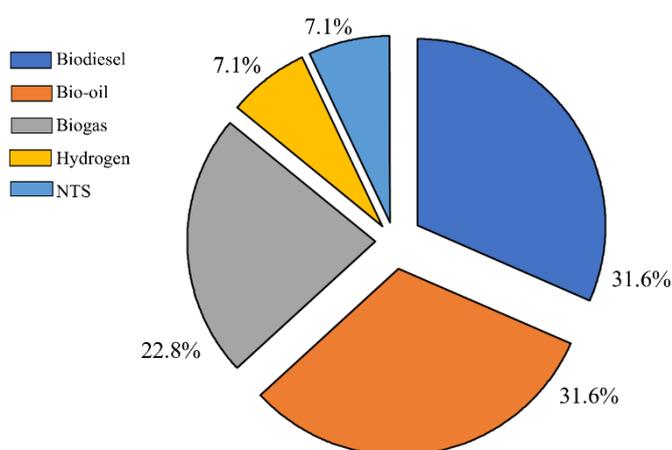
De acordo com Hemaiswarya *et al.* (2011), as microalgas têm aplicações distintas na aquicultura, e seu uso é principalmente para fornecer nutrição e para realçar a cor da carne de salmonídeos. Os cientistas também relataram que várias larvas de moluscos, equinodermos, crustáceos e peixes se alimentam de microalgas, e as espécies mais utilizadas são as seguintes: *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* e *Thalassiosira* (Hemaiswarya *et al.*, 2011). Essas patentes convergem com o que foi relatado na literatura, pois de acordo com a revisão proposta por Koyande *et al.* (2019a), as

microalgas já são fonte de alimento para ruminantes, suínos, aves e espécies aquáticas (Koyande *et al.*, 2019a).

Por outro lado, as nanopartículas metálicas (NPs) são uma lacuna tecnológica promissora que ainda não se materializou. Embora tenha sido mencionado que essas partículas são utilizadas como parte constituinte de bioadsorventes, é provável que não sejam provenientes da biossíntese realizada por microalgas. Em contraste com as rotas químicas e físicas convencionais, a síntese biológica de NPs tem inúmeros benefícios, pois é um caminho econômico que não requer o uso de altas temperaturas, altas pressões ou solventes químicos prejudiciais (Shankar *et al.*, 2016). A vantagem dessa rota ecológica também é o alinhamento com o MBBET, pois os efluentes contêm íons metálicos que são substratos para a produção de nanopartículas comerciais pelo mecanismo de biorremediação. Embora as microalgas tenham sido consideradas como “nano-fábricas”, os NPs metálicos ainda são um vácuo tecnológico no âmbito da pesquisa de patentes.

O termo “biomassa” na Figura 33, refere-se aos documentos que contêm tecnologias desenvolvidas para produzir biomassa ou que mencionam que foi reciclada sem nomear o bioproduto anelado. Embora os biocombustíveis (biogás, biodiesel, bio-óleo e hidrogênio) sejam os principais tópicos das publicações mais recentes, em termos de desenvolvimento de tecnologia, eles ainda são relativamente incipientes, contribuindo com aproximadamente 15% do total de documentos. Por ser um dos pilares do nexos “água-alimento-energia”, o uso de biocombustíveis de terceira geração foi dividido em um gráfico à parte, conforme mostra a Figura 34.

Figura 34 – Divisão dos biocombustíveis de terceira geração presentes nas patentes prospectadas



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Dos biocombustíveis produzidos a partir de microalgas, a maioria é composta por bio-óleo e biodiesel, cada um com 31,6%, sendo a menor parte o hidrogênio com 7%. O biodiesel é produzido através da extração e transesterificação do óleo de algas, já o bio-óleo é obtido através de um processo termoquímico, sendo a pirólise comumente empregada, que é um método econômico em comparação com outros existentes, pois apresenta alta eficiência e baixo consumo de energia (Rago; Mohee; Surroop, 2018).

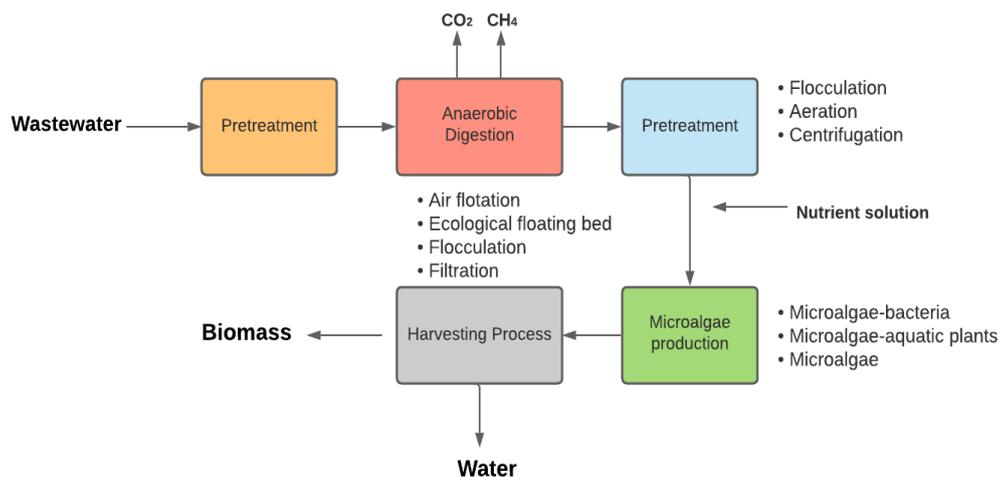
A maioria das tecnologias voltadas ao bio-óleo provavelmente está relacionada ao seu potencial para substituir o petróleo, uma vez que o bio-óleo possui em média 80% do conteúdo energético do petróleo (Milano *et al.*, 2016) e, portanto, é uma fonte promissora de combustíveis para transporte para o futuro (Li; Srivatsa; Bhattacharya, 2019). Recentemente, as quatro cepas de microalgas a seguir foram indicadas como as mais promissoras para a produção de biocombustíveis (*Tetraselmis suecica*, *Spirulina*, *Nannochloropsis sp.* e *Chlorella vulgaris*), conforme relatado em (Li; Srivatsa; Bhattacharya, 2019).

Cabe salientar que embora a produção de etanol de terceira geração tenha sido amplamente discutida na literatura, assim como a produção de bioplásticos a partir de biomassa de microalgas, nenhuma tecnologia foi encontrada para o direcionamento de bioetanol a partir de carboidratos acumulados na biomassa ou bioplásticos intracelulares (Hossain *et al.*, 2019; Karan *et al.*, 2019). Como essas tecnologias não aparecem nas Figuras 33 e 34, elas podem ser definidas, até a presente data, como vácuos tecnológicos.

4.1.8 Tecnologia dominante para fins de biocombustíveis

No que diz respeito à tecnologia dominante a fim de produzir biomassa para posterior conversão em biocombustíveis, a biodigestão anaeróbica se destaca. A Figura 35 mostra uma síntese do mecanismo de trabalho usual desta tecnologia, doravante conhecida como tecnologia de 5 passos. Como o próprio nome sugere, esta é uma compilação dos métodos usados em uma sucessão de cinco etapas (i.e., pré-tratamento de águas residuais, biodigestão anaeróbica, pré-tratamento do digerido, tratamento bioquímico de microalgas e separação da biomassa resultante), que constituem a espinha dorsal da tecnologia representada pelos retângulos, enquanto os pontos representam as especificidades encontradas em cada método.

Figura 35 –Esquemático da tecnologia de 5 passos

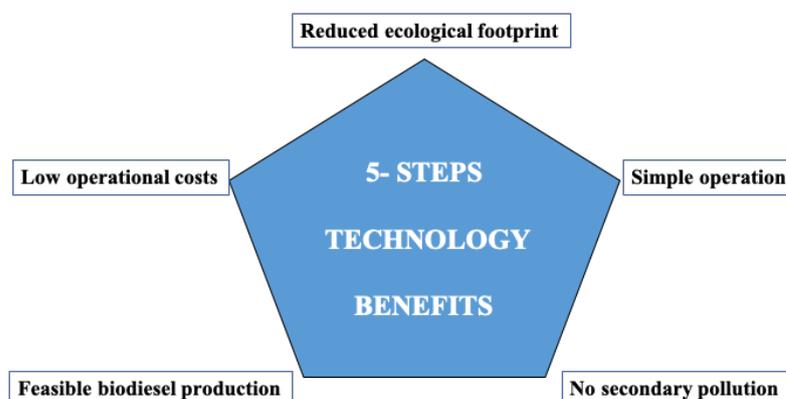


Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

A predominância da digestão anaeróbica está de acordo com o demonstrado na Figura 32, onde o digestato contribuiu com 14,2 % das patentes na categoria esgoto, bem como com o que foi publicado na literatura sobre o uso do digestato como meio de cultura para microalgas (Thi Nguyen; Lin; Lay, 2019).

A tecnologia de 5 etapas também apresenta cinco benefícios principais, que foram descritos de forma pulverizada pelos inventores e são mostrados na Figura 36: (i) baixo custo operacional, (ii) operação simples, (iii) baixa pegada ecológica, (iv) redução dos custos de produção de biodiesel e (v) ausência de poluição secundária.

Figura 36 – Cinco benefícios da tecnologia predominante para produção de biocombustíveis de terceira geração



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

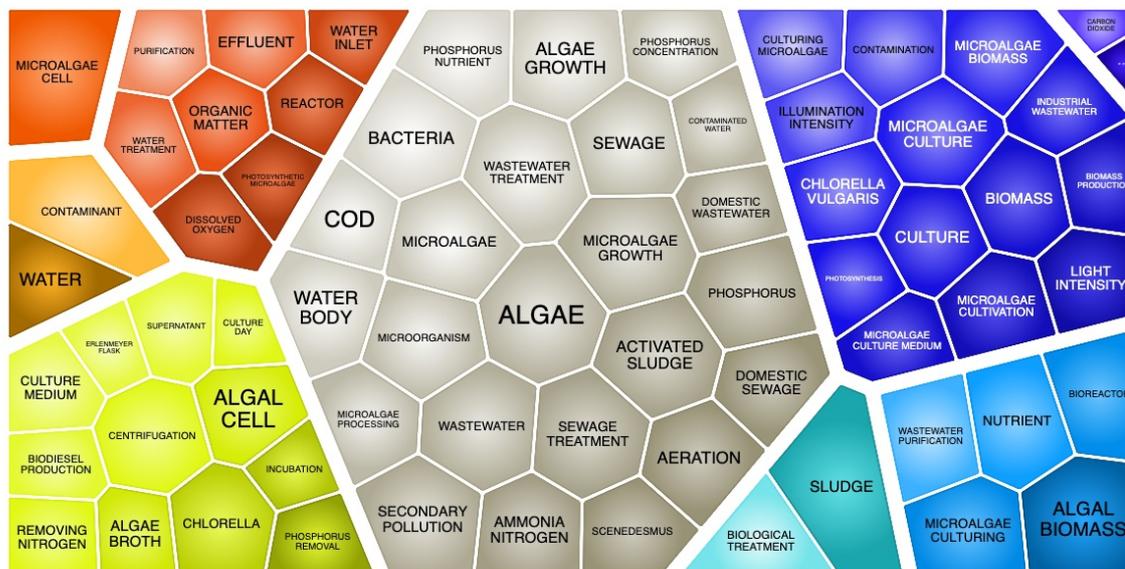
Nota-se o papel relevante que esta tecnologia pode adquirir em países em desenvolvimento, uma vez que nesses países, cerca de 80% do esgoto é lançado em corpos hídricos sem tratamento prévio, culminando em impactos ambientais, como a eutrofização (Samal; Kar; Trivedi, 2019). Da mesma forma, como mencionado anteriormente, a maior parte dessas patentes foi desenvolvida em universidades, mostrando o benefício de formar ecossistemas simbióticos inovadores nesses países, ou seja, fortalecer os laços de iniciativa público-privada, condição essencial para fomentar o crescimento econômico e sustentável. O benefício da redução da pegada ecológica é bem-vindo em qualquer processo, principalmente quando conjugado com o fator econômico e inserido no atual contexto de alarmantes índices de degradação ambiental, onde a atual pegada ecológica do planeta é realmente superior à “biocapacidade” da natureza, isto é, a capacidade de regeneração natural (Weetman, 2017). Algumas medidas singulares foram notadas para a tecnologia de 5 passos, onde estão essas patentes, salvo aquelas que utilizaram centrifugação, optando por métodos de separação de biomassa cada vez mais simples e baratos, e reportando estratégias para aumentar a eficiência energética.

Outro aspecto interessante é que mesmo com o rápido desenvolvimento e consolidação do processo de digestão anaeróbica de resíduos bovinos na Europa, principalmente na Alemanha, como citado por Marcilhac *et al.* (2015), a ligação desse processo com microalgas não foi observada nas patentes desses países (Marcilhac *et al.*, 2015). Por fim, é importante destacar que essa tecnologia permite a obtenção de quatro produtos: biomassa, metano, CO₂ e água. A água pode ser utilizada para irrigação e virescência, contribuindo para os três blocos donexo. Considerando que os efluentes, como o digestato e o efluente líquido, podem ser reaproveitados, o consumo de água é reduzido. Além disso, a energia é gerada a partir do biogás. A biomassa pode ser utilizada não apenas como combustível de terceira geração, mas também em outras aplicações biotecnológicas, permitindo a fabricação de produtos de maior valor.

4.1.9 Agrupamento de palavras-chave e microalgas empregadas

A Figura 37 mostra os *clusters* de palavras-chave que mais se repetiram nas patentes prospectadas.

Figura 37 – Aglomerado de palavras-chave que mais se repetiram no portfólio de patentes



Fonte: Pessoa *et al.* (2021)

Como pode ser visto, alguns dos conceitos se repetem em mais de um aglomerado, o que pode corroborar a observação de que os documentos de patentes estão mais focados no tratamento dos efluentes do que na agregação de valor à biomassa resultante. Por exemplo, as palavras relativas ao tratamento de efluentes (e.g., tratamento de águas residuais, 137; purificação de águas residuais, 54; tratamento de esgoto, 96; tratamento de água, 49) são predominantemente sobre a produção de bioprodutos (produção de biodiesel, 39; produção de biomassa, 39). O biodiesel está sozinho no aglomerado verde intitulado centrifugação, onde a *Shandong University* é a maior depositante com quatro famílias de patentes ao lado da *Enn Science & Technology* com três. A palavra “biorreator” possui 44 famílias de patentes, das quais a Universidade de Guangxi aparece como principal depositante. A palavra “*microalga*” aparece na maioria dos documentos sem especificar o gênero, mas naqueles que a descrevem, *Chlorella* aparece em 16% deles, seguido por *Scenedesmus* (6,8%), *Microcystis* (1,4%), *Desmodesmus* (1,2%), *Botryococcus braunii* (0,9%), *Cladophora* (0,5%).

4.1.10 Perspectivas e desafios tecnológicos futuros

Essa prospecção tecnológica foi dedicada ao mapeamento das tendências tecnológicas globais no campo visado; entretanto, algumas lacunas podem ser exploradas e complementadas para trabalhos futuros considerando duas perspectivas: ferramentas para prospecção e tecnologias para MBBET. Primeiro, outras técnicas de mineração de texto e abordagens de

visualização podem ser exploradas. Por exemplo, redes de patentes podem ser usadas para escrutinar os indicadores de colaboração entre instituições e requerentes, pois isso permitirá uma visão mais profunda do grau de interação entre os setores público e privado, bem como parcerias globais para diferentes tipos de tecnologia. Além disso, rastrear e quantificar patentes protegidas além de suas fronteiras pode ser vantajoso para obter uma noção de sua relevância econômica, pois quanto mais países uma patente é estendida, maiores são os custos que o requerente está disposto a assumir para a extensão.

Em relação à segunda perspectiva, cinco pontos são relevantes para o futuro da produção de microalgas: desaguamento, colheita, cultivo médio e tamanho da planta, onde o primeiro e o segundo pontos são as etapas mais intensivas em capital (Koyande *et al.*, 2019b). Essa prospecção se concentrou mais em tecnologias de colheita e meios de cultura devido à amplitude de códigos utilizados; no entanto, uma discussão sobre patentes de biorreatores e suas nuances também é um tópico futuro no qual a Universidade Guaxi parece se destacar. Outro ponto que merece destaque é que semelhante ao percebido por Yu *et al.* (2017) no contexto da pesquisa científica, relativamente poucas tecnologias foram desenvolvidas até hoje com outras cepas além de *Chlorella* e *Scenedesmus* (Yu *et al.*, 2017).

Três desafios relacionados aos bioprodutos de microalgas foram demonstrados como notas futuras a serem avaliadas: bioetanol, bioplásticos e nanopartículas metálicas. Apesar de seu importante papel na transição energética e para a inserção do paradigma donexo água-alimento-energia, o bioetanol de microalgas ainda é um desafio que não é suportado por tecnologias. Na mesma linha, os bioplásticos de algas são promissores por possuírem propriedades mecânicas semelhantes aos plásticos convencionais de petróleo, mas também são um desafio que ainda não foi encontrado nas tecnologias. Finalmente, as nanopartículas metálicas da biossíntese de microalgas também são um desafio potencial para a nanobiotecnologia futura e, conseqüentemente, para o MBBET.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EFLUENTES, PRÉ-TRATAMENTO E CULTIVOS PRELIMINARES

4.2.1 Composição química da água produzida

A composição da água produzida é um fator determinante para o êxito do cultivo de microalgas. A Tabela 5 revela a presença de micronutrientes-chave, como manganês, ferro e zinco, que desempenham, respectivamente, as seguintes funções: estimular o crescimento

atuando como cofatores em sistemas enzimáticos; participar no transporte de elétrons e na respiração celular; e auxiliar na captação de fósforo durante a transcrição de DNA (Al-Ghouti *et al.*, 2019; Ciurli *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023). Apesar da ausência de uma fonte de nitrogênio, nota-se uma presença ínfima de fósforo (P), que é um macronutriente essencial para as microalgas, necessário para a síntese de ácidos nucleicos (RNA e DNA), produção de ATP para energia metabólica e formação de fosfolípidios nas membranas celulares (Su, 2021).

Tabela 5 – Composição química da água produzida

Componente	Unidade	Resultado	LQ*
Cloreto (Cl ⁻)	g L ⁻¹	7,786	5,00
Sulfato (SO ₄)	mg. L ⁻¹	320,48	250
Alumínio (Al)	mg. L ⁻¹	0,195	0,0250
Manganês (Mn)	mg. L ⁻¹	1,9	0,0050
Ferro (Fe)	mg. L ⁻¹	20	0,0050
Arsênio (As)	mg. L ⁻¹	0,00192	0,0005
Fósforo (P)	mg. L ⁻¹	0,19	0,050
Nitrato (NO ₃)	mg. L ⁻¹	< 0,01	0,01
Chumbo (Pb)	mg. L ⁻¹	<0,005	0,05
Cádmio (Cd)	mg. L ⁻¹	<0,005	0,005
Níquel (Ni)	mg. L ⁻¹	<0,02	0,02
Cobalto (Co)	mg. L ⁻¹	<0,03	0,03
Cobre (Cu)	mg. L ⁻¹	0,0015	0,0005
Molibdênio (Mo)	mg. L ⁻¹	<0,50	0,50
Vanádio (V)	mg. L ⁻¹	<0,10	0,10
Selênio (Se)	mg. L ⁻¹	<0,10	0,10
Titânio (Ti)	mg. L ⁻¹	<0,10	0,10
Zinco (Zn)	mg. L ⁻¹	0,0124	0,0050
Cromo (Cr)	mg. L ⁻¹	<0,005	0,005
Benzeno	µg. L ⁻¹	5,470	1,00
Tolueno	µg. L ⁻¹	7,260	1,00
Etilbenzeno	µg. L ⁻¹	<1,00	1,00
Xilenos Totais	µg. L ⁻¹	<3,00	3,00
Carbono Orgânico Total (TOC)	mg. L ⁻¹	31	6,0
Hidrocarbonetos totais de petróleo (HTP)	µg. L ⁻¹	767	300
Soma de PHAs	µg. L ⁻¹	3,7	0,18
pH (25°C)	-	5,2	-
Salinidade (NaCl)	g. L ⁻¹	150,665	8230
Turbidez	NTU	197	-

LQ = Limite de quantificação

Fonte: Elaborada pelo autor (2023)

Sob o prisma das cinco barreiras típicas ao cultivo de microalgas em AP construídas nesta tese, reportada em Pessoa *et al.* (2022) e recentemente ratificadas por Kadri *et al.* (2024), constatou-se que três estão presentes na composição da água acima: (i) turbidez, (ii) deficiência

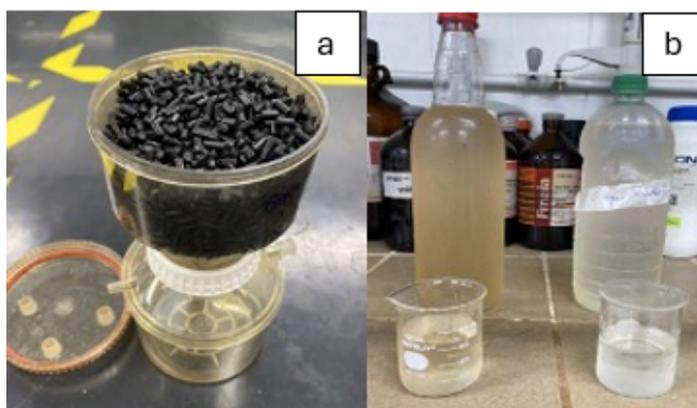
de N e P, e (iii) salinidade. Em comparação aos estudos sistematizados no Quadro 3, o valor de salinidade mencionado acima ($150,6 \text{ g L}^{-1}$) superou o maior valor reportado nos trabalhos, que foi de $113,6 \text{ g L}^{-1}$, conforme descrito por Parsy *et al.* (2020). Por outro lado, BTEX e metais pesados não foram considerados barreiras significativas de acordo com os dados comparativos da literatura. Por exemplo, os níveis de benzeno e tolueno também reportados por Parsy *et al.* (2020) (i.e., 600 e $390 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) foram aproximadamente 110 e 54 vezes maiores que os valores apresentados na Tabela 5 (i.e., $5,47$ e $7,26 \mu\text{g L}^{-1}$). Além disso, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foram investigados por Tomar, Rai-Kalal e Jajoo (2022), que analisaram o impacto desses compostos na *Chlorella* somente a partir de $5000 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo o valor deste estudo substancialmente menor (i.e., $3,7 \mu\text{g L}^{-1}$).

Em contraste, o valor de ferro foi relativamente alto, conforme também informado por Parsy *et al.* (2020); contudo, estes mesmos pesquisadores demonstraram o potencial de biorremediação de 95% pela *Nannochloropsis oculata* como solução para este composto. Similarmente, Silva *et al.* (2021) mostraram um potencial de biorremediação de 90,74% pela *Chlorella vulgaris*. Portanto, é necessário mitigar os impactos das três barreiras identificadas na composição da água fornecida pela empresa, por meio de um pré-tratamento e suplementação adequados.

4.2.2 Pré-tratamento da água produzida

O pré-tratamento da AP com carvão ativado (CA), visando diminuir a barreira da turbidez, foi apontado na Quadro 4 da revisão bibliográfica como uma solução viável do ponto de vista técnico-econômico. A Figura 38 ilustra o pré-tratamento desempenhado.

Figura 38 – Aparato utilizado para o pré-tratamento realizado na água produzida com o CA (a), (b) água produzida bruta à esquerda e à direita a água tratada



Fonte: Elaborada pelo autor (2021)

Notavelmente, os sólidos em suspensão foram removidos, assim como parte dos sólidos dissolvidos, tornando a água mais límpida, isto é, menos turva. Como apresentado anteriormente, a redução dessa barreira é fundamental para uma maior penetração da luz e, conseqüentemente, um maior rendimento fotossintético das microalgas. A Tabela 6 aborda a caracterização dos principais parâmetros antes e depois do tratamento. Pode-se observar que a turbidez é integralmente reduzida, assim como as frações de BT. Em contrapartida, observa-se um ligeiro aumento na concentração da salinidade devido à remoção de alguns compostos. Além disso, a pequena quantidade de P presente na AP foi igualmente adsorvida pelo (CA), um comportamento também notificado pela pesquisa de Godfrey (2012), onde a redução foi mais pronunciada. No caso de se trabalhar com AP praticamente isenta de macronutrientes, que é o caso desta tese, o uso de carvão ativado pode ser uma solução de pré-tratamento mais desejável em relação às águas que apresentam maior concentração desses nutrientes. Para contornar o inconveniente da redução de P, a deficiência do N e do aumento da salinidade, a suplementação com manipueira tem um benefício triplo: pode simultaneamente aportar (P), (N) e atuar como um agente diluidor de sal de forma potencialmente econômica.

Tabela 6 – Antes e depois do pré-tratamento da AP com carvão ativado

	AP bruta	AP tratada	
	ANTES	DEPOIS	REMOÇÃO
Turbidez (NTU)	197	0,09	≅ 100%
Benzeno (g L⁻¹)	5,47 x 10 ⁻⁶	-	100%
Tolueno (g L⁻¹)	7,26 x 10 ⁻⁶	-	100%
TOC (g L⁻¹)	3,1 x 10 ⁻²	1,8 x 10 ⁻²	42%
Fósforo (g L⁻¹)	1,9 x 10 ⁻⁴	0	100%
Salinidade (g L⁻¹)	150	152,8	-

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

4.2.3 Caracterização da Manipueira

Em relação à caracterização da MP, nota-se que a composição centesimal consistiu predominantemente em umidade, seguido dos carboidratos (Tabela 7). Em comparação aos outros trabalhos da literatura, os valores encontrados demonstram-se consistentes. Dois inconvenientes da MP foram o pH ácido, sendo dez vezes mais ácida do que a AP, e a concentração de sólidos totais. Estes desafios foram solucionados, conforme salientado na

metodologia, com a filtração por membrana de acetato de celulose 0,45 μ m e correção de pH através de NaOH.

Tabela 7 – Caracterização da manipueira

Componentes	Presente trabalho	BARBOSA (2017)	BARRETO (2013)	FURTADO (2010)
Umidade (%)	93,36 \pm 0,35	92,27		94,47 \pm 0,4
Carboidratos (%)	3,35 \pm 0,55	2,26		
Cinzas (%)	1,42 \pm 0,04	2,27		0,73 \pm 0,2
Proteína (%)	1,87 \pm 0,16	1,77		0,69 \pm 0,02
pH	4,23		5,83	4,23 \pm 0,02
Fósforo (g L ⁻¹)	0,48 \pm 0,053		0,67	
Sólidos Totais (g L ⁻¹)	22,83 \pm 0,60		18,45	
Sólidos em suspensão (g L ⁻¹)	4,00			
Sólidos dissolvidos (g L ⁻¹)	21,73 \pm 2,04			

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Embora, à primeira vista, o percentual de proteína apresentado na Tabela 7 pareça ser pequeno, ao convertê-lo em nitrogênio total (Tabela 8), percebe-se que o valor está na mesma ordem de grandeza dos presentes nos meios sintéticos convencionais. De acordo com Hopkins *et al.* (2019), esses meios podem representar até 45% dos custos do cultivo de algas e do consumo efetivo de energia. De forma semelhante, o fósforo total ficou entre os valores dos meios Zarrouk e BG11. Esses resultados sugerem que a manipueira pode ser utilizada como meio suplementar para ambos os nutrientes, potencialmente superando o digestato utilizado por Parsy *et al.* (2020). Além disso, enquanto os pesquisadores precisaram suplementar o digestato com AP e P adicionalmente, a manipueira já oferece esses nutrientes de forma integrada.

É importante destacar a discrepância entre a concentração inicial de P presente na AP, 0,19 x 10⁻³ g L⁻¹ (0,19 mg L⁻¹), conforme apresentado na Tabela 13, e as concentrações de P nos meios sintéticos Zarrouk e BG-11, amplamente utilizados comercialmente, conforme exposto na Tabela 8. Observa-se que a concentração de P na AP é aproximadamente 263 vezes inferior em comparação ao meio Zarrouk e 21 vezes menor em relação ao meio BG-11. Esses dados indicam que, para se utilizar a AP como meio de cultivo, a suplementação de P, assim como a de nitrogênio, é essencial para atender às necessidades nutricionais adequadas para o crescimento das microalgas e a síntese de bioprodutos.

Tabela 8 – Comparação dos meios padrões para cultivo de microalgas com a manipueira

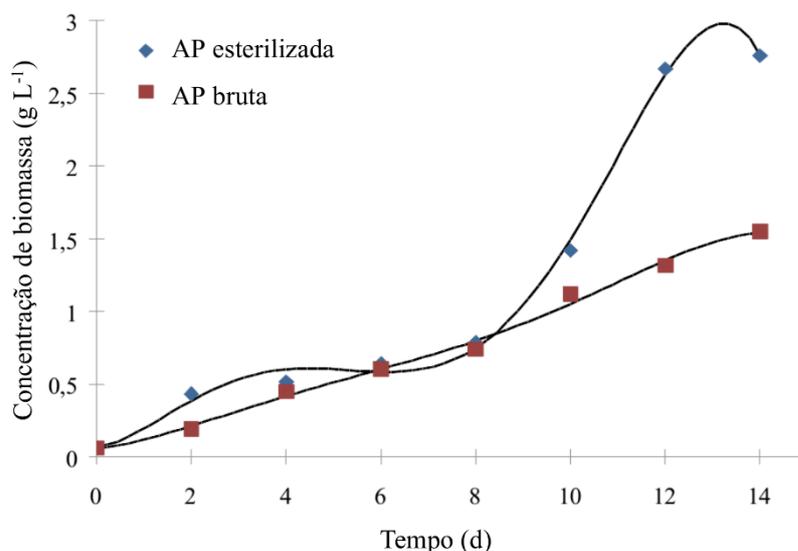
Meio	Fonte de Nitrogênio	Concentração (g L ⁻¹)	Fonte de fósforo	Concentração (g L ⁻¹)
Manipueira	Nitrogênio total	2,99	Fósforo total	0,48
BG-11 (sintético)	Nitrato de sódio	1,5	Fosfato ácido dipotássio trihidratado	0,04
ZARROUK (sintético)	Nitrato de sódio	2,5	Fosfato dipotássico	0,50

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

4.2.4 Cultivos preliminares

Como etapa inicial, a aclimação progressiva da *Chlorella* foi indispensável de acordo com o que fora abordado na revisão realizada. A aclimação ativa genes específicos do microrganismo, aumentando a capacidade do sistema biológico de superar distúrbios externos, reduzindo significativamente as fases de *lag* e, portanto, tornando-se uma estratégia eficiente para a biorremediação (Chieti *et al.*, 2024). As microalgas utilizadas neste estudo cresceram previamente em meio contendo pequenas concentrações (10%) de AP e (2%) manipueira, durante um total de 30 dias. Entretanto, antes de iniciar os cultivos definitivos, foi necessário comprovar o papel da esterilização da AP. O Quadro 4 na revisão da literatura, apontou esse aspecto como inconclusivo. Embora 8 dos 13 estudos que realizaram o pré-tratamento também tenham optado pela esterilização, os resultados não foram comparáveis. Apenas um estudo (Ranjbar *et al.*, 2015) justificou com dados o benefício da esterilização. Assim, a Figura 39 ilustra o efeito da esterilização da AP, antes do pré-tratamento via CA, na curva de crescimento de *C. vulgaris*.

Figura 39 – Curvas de crescimento da microalga *C. vulgaris* cultivada com 10% de AP esterilizada e bruta (não esterilizada) durante 14 dias



Fonte: Elaborada pelo autor (2021)

A microalga *C. vulgaris* acima, previamente aclimatada, demonstrou crescimento na presença AP, atingindo valores de produtividade finais comparáveis aos reportados por Rahman *et al.* (2021). Esses pesquisadores observaram uma produtividade de $0,24 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ utilizando 10% de AP, suplementada com fosfato e nitrato. No entanto, a concentração de biomassa obtida quando a AP foi esterilizada atingiu $2,75 \text{ g L}^{-1}$, representando um aumento de 44% em relação ao cultivo com AP não esterilizada, que resultou em uma concentração de $1,55 \text{ g L}^{-1}$ (Tabela 9). Complementarmente, observa-se que a curva do cultivo em AP esterilizada apresentou fases de crescimento exponencial com inclinação mais acentuada. Essa diferença significativa pode ser atribuída a três fatores principais: (i) a presença de microrganismos competidores por substrato na AP bruta, que podem reduzir a eficiência do crescimento da *Chlorella*; (ii) a inibição causada por substâncias químicas presentes no meio, como metais pesados, que podem precipitar durante o processo de esterilização, reduzindo sua disponibilidade e toxicidade; e (iii) a concentração de sólidos em suspensão, que podem obstaculizar o acesso da luz às células das microalgas.

A Tabela 9 apresenta os parâmetros cinéticos dos cultivos realizados com AP esterilizada e AP não esterilizada. Observa-se que todos os parâmetros cinéticos foram superiores para o cultivo com AP esterilizada, destacando-se a produção máxima de biomassa, que foi quase o dobro em comparação com o cultivo com AP não esterilizada. A esterilização da AP antes do cultivo de *Chlorella* resulta, portanto, em uma concentração de biomassa significativamente maior. Isso pode ser atribuído à eliminação de microrganismos

competidores, à precipitação de metais pesados e à remoção de compostos voláteis inibitórios. Esses fatores combinados contribuem para um ambiente mais favorável ao crescimento da microalga, resultando em maior produtividade e eficiência no cultivo.

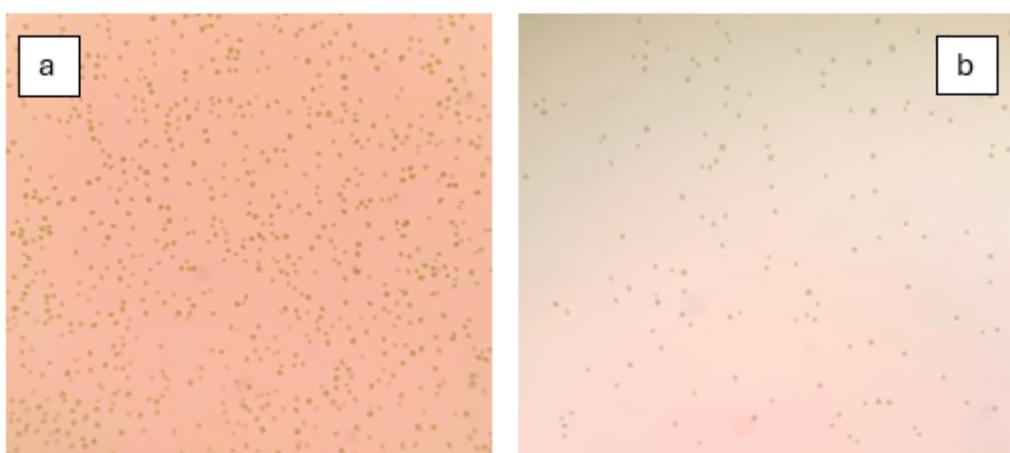
Tabela 9 – Parâmetros cinéticos dos testes realizados com a microalga *Chlorella* cultivada com 10% de água produzida (AP) da extração de petróleo esterilizada e não esterilizada

Parâmetros cinéticos	AP esterilizada	AP não esterilizada
$X_{máx}$ (g L ⁻¹)	2,75	1,55
$P_{máx}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,22	0,11
$\mu_{máx}$ (d ⁻¹)	0,17	0,13
Tg (d)	4,02	5,42

Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

De acordo com as imagens do microscópio (Figura 40), a população de microrganismos proveniente da água esterilizada, à esquerda, ficou visualmente superior em relação ao da direita. Nota-se, todavia, que não houve a presença de microrganismos invasores, pois há uma morfologia uniforme das células. Isso pode estar associado ao valor de salinidade, uma vez que o alto teor de salinidade pode levar à insuficiência de oxigênio nas células, causando a morte microbiana (Patel *et al.*, 2021; Vo *et al.*, 2023).

Figura 40 – Microscopia de *C. vulgaris* cultivada com 10% de AP (a) esterilizada, (b) não esterilizada



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Com base nos resultados preliminares obtidos, decidiu-se prosseguir com os cultivos utilizando AP esterilizada ao longo desta tese. Fica evidente que a esterilização pode ser considerada uma etapa eficaz de pré-tratamento do efluente, embora essa abordagem raramente

tenha sido explorada dessa forma na literatura. Dada a potencial transposição de escala para esta solução tecnológica de bioprocesso, torna-se essencial investigar separadamente os efeitos dos pré-tratamentos. Isso permitirá a construção de dados robustos e modelagens necessárias para análises técnico-econômicas e de ciclo de vida, visando o desenvolvimento do melhor desenho de pré-tratamento da AP em conjunto com o tratamento biológico por microalgas. Neste contexto, o papel da suplementação da manipueira e o pré-tratamento com o CA foram avaliados no tópico seguinte sob uma perspectiva cinética.

4.3 INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO E SUPLEMENTAÇÃO NO CRESCIMENTO MICROALGAL E NA SÍNTESE DE BIOPRODUTOS

A Tabela 10 ilustra os parâmetros cinéticos calculados (X_{\max} , P_{\max} , μ_{\max} t_g). Pode-se analisar os resultados abaixo sob a ótica de duas frentes: o efeito do pré-tratamento e o efeito da suplementação da AP.

Tabela 10 - Parâmetros cinéticos do crescimento de *C. vulgaris* cultivada com 15% de água produzida (AP) e 5% de manipueira

Cultivo	X_{\max} (g L ⁻¹)	P_{\max} (g L ⁻¹ d ⁻¹)	μ_{\max} (d ⁻¹)	T _g (d)
APSTSS	3,18 ± 0,33 ^{a,b}	0,22 ± 0,02 ^c	0,102 ± 0,013 ^a	6,79 ± 0,86 ^b
APCTSS	3,65 ± 0,10 ^a	0,20 ± 0,01 ^c	0,101 ± 0,019 ^a	6,87 ± 1,30 ^b
APSTCS	2,70 ± 0,05 ^b	0,32 ± 0,02 ^b	0,060 ± 0,005 ^c	11,55 ± 0,96 ^c
APCTCS	2,76 ± 0,16 ^b	0,42 ± 0,03 ^a	0,080 ± 0,004 ^b	8,62 ± 0,43 ^b

APSTSS e APCTSS: água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; APSTCS e APCTCS: água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manipueira. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

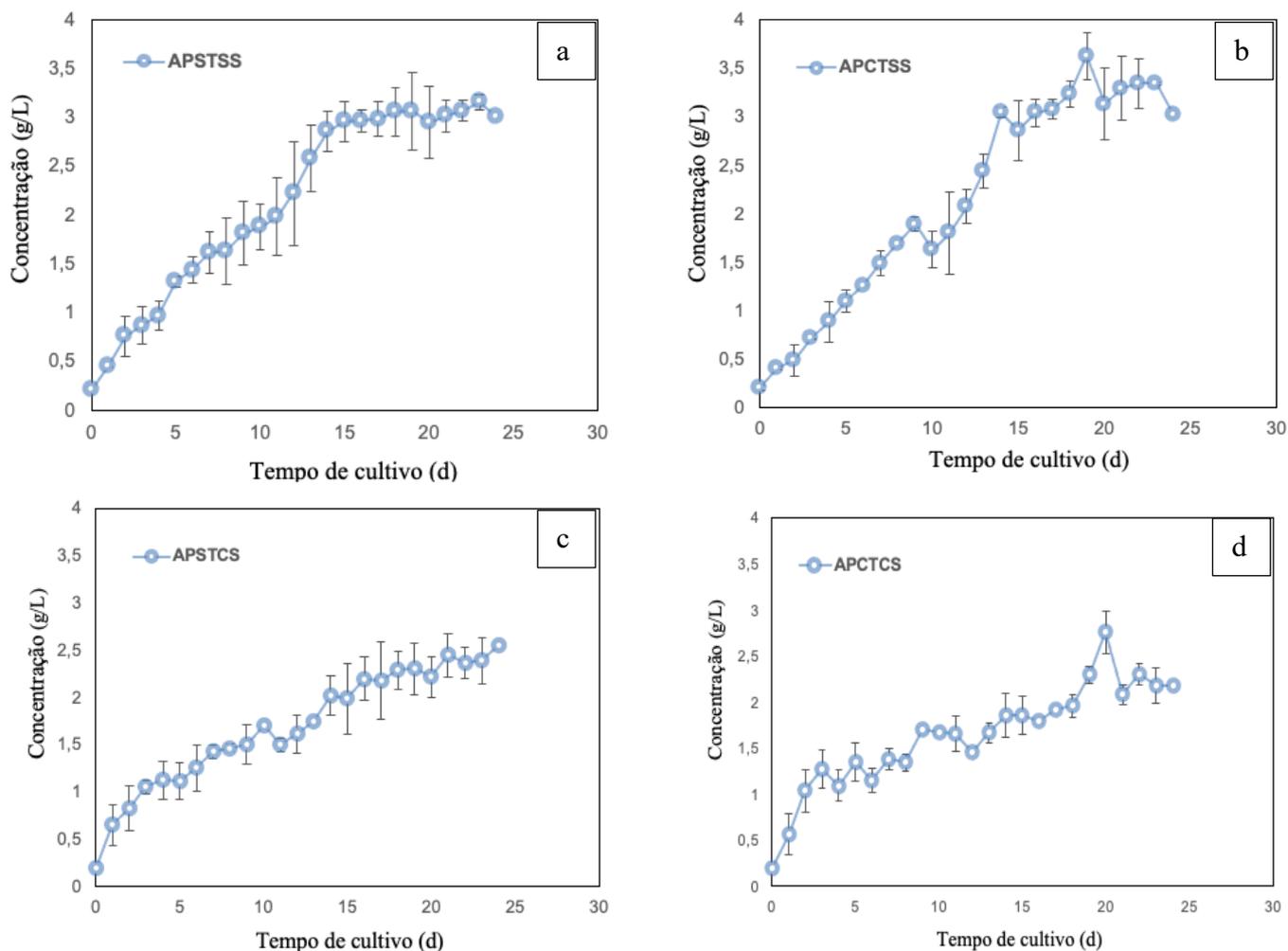
Os resultados indicam que as amostras APSTSS e APCTSS apresentam parâmetros cinéticos semelhantes e não diferem significativamente entre si. Isso contraria a hipótese inicial de que cultivar *C. vulgaris* em água pré-tratada com carvão ativado teria um efeito estatisticamente relevante em comparação ao cultivo em água bruta. No entanto, ao analisar o efeito do pré-tratamento com suplementação (i.e., APSTCS versus APCTCS), observa-se que a produtividade foi superior no último caso, indicando que o pré-tratamento com carvão ativado só foi eficaz quando acompanhado da suplementação.

Silva *et al.* (2023) reportaram uma produtividade de $(0,04 \pm 0,01 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1})$ para o cultivo de *C. vulgaris* em 30% de AP, valor aproximadamente três vezes menor que o obtido no controle com meio sintético BG-11 $(0,13 \pm 0,01 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1})$. Os pesquisadores atribuíram esse resultado negativo à deficiência de fósforo presente na AP. Portanto, pode-se inferir da Tabela 10 que os macronutrientes fornecidos pela MP desempenharam um papel crucial na produtividade microalgal.

Por outro lado, a velocidade específica máxima foi superior nos pontos sem suplementação, sendo mínima para APSTCS e intermediária para APCTCS. As amostras suplementadas apresentam uma maior carga orgânica em comparação as não suplementadas, o que pode intensificar a competição entre dois caminhos metabólicos distintos: a respiração e a fotossíntese (Daliry *et al.*, 2017; Sipaúba-Tavares *et al.*, 2020). Embora o crescimento mixotrófico possa aumentar a produção de biomassa em determinadas condições, a complexidade de gerenciar duas vias metabólicas pode reduzir a taxa de crescimento específico máxima (Li *et al.*, 2014; Sipaúba-Tavares *et al.*, 2020). Uma possível evidência desse fenômeno é a diferença observada entre as velocidades específicas de APSTCS e APCTCS (i.e., $0,060$ e $0,08 \text{ d}^{-1}$), respectivamente. Conforme mostrado na Tabela 6, a água bruta apresenta uma carga orgânica 42% superior, o que pode potencialmente agravar os efeitos negativos do crescimento mixotrófico.

Rahman *et al.* (2021) cultivaram *C. vulgaris* em 20% de AP e relataram uma produtividade de $0,17 \pm 0,04 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, valores próximos aos reportados na Tabela 10 sem suplementação; contudo, menos da metade dos valores obtidos com o cultivo deste trabalho suplementado (i.e., $0,32 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ $0,02^b$). Curiosamente, embora a AP utilizada pelos pesquisadores apresentasse teor de N, Rahman *et al.* (2021) suplementaram o meio com P e N para níveis equivalentes aos de meios sintéticos, mas ainda assim obtiveram uma produtividade inferior ao deste estudo. Portanto, os dados sugerem que o pré-tratamento da água produzida com o carvão ativado concomitante à suplementação promoveu a maior produtividade microalgal, representando um cenário promissor para ser uma prova de conceito numa escala piloto.

Figura 41 –Curvas de crescimento para a *Chlorella vulgaris*, onde (a) **APSTSS**: água produzida sem tratamento e sem suplementação; (b) **APCTSS**: água produzida com tratamento e sem suplementação; (c) **APSTCS**: água produzida sem tratamento e com suplementação; (d) **APCTCS**: água produzida com tratamento e com suplementação



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

A Figura 41 fornece uma evidência contundente dos benefícios da aclimação, uma vez que, em todos os tratamentos, praticamente não se observou a presença da fase de latência, isto é, a fase *lag*, aquela em que o crescimento é nulo. Hajjar Rakhmadumila e Setiani Muntalif (2020) demonstraram 5 dias da fase *lag* para o cultivo de *Chlorella sp* em 25% de AP sem aclimação e um aumento de 6 dias para as concentrações de 50% e 100%. Diferentemente do observado por estes pesquisadores, nesta tese, o microrganismo já estava com seu aparato bioquímico aclimatado, mesmo nos pontos de suplementação com a MP. No entanto, observa-se uma variabilidade nas curvas de crescimento, com exceção das amostras suplementadas, que apresentaram maior estabilidade. Conforme será discutido na seção do planejamento experimental de Doehlert, os experimentos realizados no *shaker* demonstraram uma

estabilidade superior em comparação aqueles conduzidos na câmara incubadora (BOD). Este bloco de resultados destacou a importância da aclimação no preparo dos microrganismos, os efeitos potencialmente negativos da mixotropia, bem como a influência das condições experimentais na estabilidade dos cultivos.

4.3.1 Quantificação de lipídios e Perfil dos ácidos graxos

Conforme observado na Figura 14, a utilização da biomassa de microalgas cultivadas em água produzida (AP) tem sido predominantemente reportada na literatura para a produção de biodiesel. Devido à capacidade intrínseca das microalgas de capturar CO₂ e produzir combustível, seu papel nas indústrias de aviação e automotiva tem crescido anualmente (Sekar *et al.*, 2024). A utilização de microalgas como meio de valorização da AP nas indústrias de petróleo pode representar um passo significativo rumo à transformação sustentável dessas empresas, liderando uma transição para empresas de energia verde (Kadri *et al.*, 2024; Pessôa *et al.*, 2022). Nesta tese, a produção de lipídios e o perfil de ácidos graxos variaram conforme o tratamento aplicado. A Tabela 11, apresentada a seguir, ilustra essas variações.

Tabela 11 - Composição de ácidos graxos (%) em biomassa por *C. vulgaris* em comparação ao estudo controle com BG-11, realizado por Silva *et al.* (2022)

(continua)

	Grupo 1			Grupo 2		Controle
Ac. Graxos	APSTSS	APCTSS	APSTCS	APCTCS		
Lipídios (%)	10,66	21,53	7,69	8,02		21,37
C4:0	1,75±0,01	1,73±0,01	3,73±0,08	2,27±0,30		12,98 ± 0,05
C6:0	0,28	0,84±1,14	0,07±0,01	0,05±0,01		n.d
C8:0	0,00	-	-	0,02±0,01		n.d
C10:0	0,00	0,02	-	0,03		n.d
C11:0	0,15	0,19	0,05±0,01	0,15±0,02		-
C12:0	0,00	0,05	1,05±0,11	0,54±0,04		n.d
SATURADOS	C13:0	1,40	1,24±0,15	1,22±0,12	1,61±0,07	0,84 ± 0,02
	C14:0	0,34	0,43±0,04	1,82±0,19	1,10±0,08	3,03 ± 0,03
	C15:0	0,29	0,23±0,06	0,30±0,02	0,38±0,01	-
	C16:0	15,64±0,03	19,39±0,22	21,86±1,44	20,62±0,58	-
	C17:0	0,16	2,96±3,91	0,18±0,01	0,16±0,01	-
	C18:0	1,50	1,86±0,16	5,18±0,24	3,65±0,59	12,52 ± 0,03
	C20:0	0,09±0,06	-	0,20±0,04	0,14±0,16	20,86 ± 0,03
	C21:0	-	-	0,02±0,01	-	
	C14:1	0,10	0,12	0,29±0,03	0,65±0,68	0,99 ± 0,06
	C15:1	0,63±0,11	0,05	0,76	0,29±0,17	n.d
MONO SATURADOS	C16:1	0,85	0,89±0,07	1,27±0,11	1,17±0,06	23,00 ± 0,17
	C17:1	12,76	10,86±0,20	9,52±0,72	12,37±0,57	4,07 ± 0,02
	C18:1 cis	8,78±0,01	9,08±0,48	7,63±0,25	5,20±0,23	-
	C18:1trans	-	2,39±1,69	-	0,61±0,41	2,64 ± 0,05

Tabela 11 - Composição de ácidos graxos (%) em biomassa por *C. vulgaris* em comparação ao estudo controle com BG-11, realizado por Silva *et al.* (2022)
(conclusão)

	Grupo 1		Grupo 2		Controle	
	Ac. Graxos	APSTSS	APCTSS	APSTCS		APCTCS
POLI SATURADOS	C18:2 cis	21,8±0,04	23,39±1,34	11,66±0,18	12,37±0,34	-
	C18:2trans	-	-	4,87±0,16	3,92±0,16	5,62 ± 0,02
	C18:3n6	0,11	-	0,76±0,95	0,03±0,02	10,63 ± 0,03
	C18:3n3	17,53±0,02	18,03±1,24	17,08±0,40	21,76±0,49	-
	Σ sat	16,71±0,05^c	28,92±0,06^b	35,65±0,08^a	30,70±0,06^b	50,23 ± 0,04
	Σ mono	22,39±0,02^a	20,94±0,04^b	19,47±0,03^c	19,68±0,05^c	30,70 ± 0,07
	Σ poli	39,33±0,03^b	41,42±0,05^a	34,36±0,01^c	38,07±0,08^b	15,93 ± 0,04
	n6/n3	1,11 ^a	1,30±0,02 ^a	0,68±0,01 ^b	0,57 ^b	n.d
	Outros AG	21,57±0,15 ^a	7,69±3,70 ^c	10,92±1,13 ^b	10,98±0,66 ^b	n.d

- Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatística, ($p < 0,05$), dentro de um intervalo de confiança de 95% para o teste post- hoc Tukey. Com exceção para o controle que, por ser da literatura, não foi avaliado estatisticamente. O **Grupo 1** consiste em (**APSTSS e APCTSS**): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; o Grupo 2 equivale a (**APSTCS e APCTCS**): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Dois resultados podem ser essencialmente discutidos quanto à concentração de lipídios. Primeiramente, para o grupo 1, o pré-tratamento da água aumentou significativamente o percentual de lipídios, passando de 10,66% para 21,53%. Quando comparado ao controle de Silva *et al.* (2022), que utilizou *Chlorella vulgaris* com meio mineral BG-11, o valor foi praticamente o mesmo (21,37%). Analogamente, Silva *et al.* (2021), ao utilizar a mesma microalga e o meio sintético BG-11 sem tratamento, obteve 17,35% para o controle. Ou seja, os valores desta tese foram semelhantes aos desses pesquisadores que utilizaram o meio sintético, demonstrando o potencial de valorização da AP por meio das microalgas.

O segundo resultado interessante refere-se ao papel do pré-tratamento no grupo 2, o grupo da suplementação. Enquanto o pré-tratamento aumentou o percentual de lipídios para o grupo 1, ele foi indiferente para o grupo 2, apresentando 7,69% e 8,02% para APSTCS e APCTCS, respectivamente. Pode-se associar essa diferença à alta concentração de matéria orgânica presente na AP e na manipueira (MP), que desencadeia uma condição de estresse adicional às microalgas. Esse estresse pode inibir a síntese de lipídios (Cardoso *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2020) ou até mesmo promover a degradação de macromoléculas para a manutenção do metabolismo (Arif *et al.*, 2021; Church *et al.*, 2017; Silva, 2021).

A análise dos resultados dos diferentes tratamentos realizados (Tabela 11) revela variações relevantes na composição dos ácidos graxos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados (AGPI). Esses resultados são fundamentais para compreender a qualidade e as propriedades do biodiesel que fora produzido em cada tratamento. Pode-se avaliá-los sob três óticas diferentes, a saber: a influência da suplementação, a influência do pré-tratamento e a comparação entre os tratamentos deste trabalho e o controle realizado por Silva *et al.* (2022).

Considerando os dados, percebe-se uma clara diferenciação na soma dos ácidos graxos saturados (\sum sat) entre os tratamentos. O tratamento APSTCS demonstra a maior média ($35,65 \pm 0,08$ %), seguido pelo tratamento APCTCS ($30,70 \pm 0,06$ %), sendo o primeiro estatisticamente significativo em relação aos tratamentos sem a suplementação pertencentes ao grupo 1 (i.e., APSTSS e APCTSS). Duas justificativas podem ser atribuídas a esse comportamento. A primeira, decorre da suplementação, já que o aporte de C, N e P pode ter favorecido à produção de ácidos graxos saturados. Assim, pode-se notar que a suplementação também beneficiou a redução de ácidos graxos poli-insaturados, uma vez que os tratamentos APSTCS e APCTCS também se destacaram com as menores médias ($34,36 \pm 0,06$, e $38,07 \pm 0,08$ %, respectivamente), em que o primeiro apresentou diferença estatística em comparação aos demais. A segunda justificativa reside no benefício que a suplementação oferece em relação

à redução da salinidade, mediante diluição do meio de cultivo. O estresse salino pode desencadear três tipos de estresses: iônico, osmótico e oxidativo (Qiao *et al.*, 2021). Por conseguinte, pode-se aumentar a presença de espécies reativas de oxigênio, culminando em um stress oxidativo, conferindo efeitos prejudiciais ao microrganismo, tais como a peroxidação lipídica, inibição enzimática e danos ao DNA (Nicolau, 2020; Qiao *et al.*, 2021).

No que diz respeito ao pré-tratamento, notam-se diferenças entre os grupos 1 e 2. Apesar do percentual de AGPI ter aumentado com o tratamento da água produzida (e.g., de $38,72 \pm 0,03$ para $41,42 \pm 0,05\%$ e $34,36 \pm 0,01$ para $38,07 \pm 0,08\%$, respectivamente), os valores de AGS aumentaram apenas para o grupo 1, enquanto para o 2 houve uma diminuição – sendo ambas as alterações estatisticamente significantes entre si. O efeito contraintuitivo do tratamento da água aumentar os AGI pode ser explicado através do ligeiro aumento da salinidade discutido na seção (4.2). De acordo com Salama *et al.* (2013) e observado por Silva *et al.* (2023) e Silva (2022), o aumento da salinidade desencadeia num aumento de AGI concomitante à redução de AGS. Uma justificativa levantada pelos autores é o papel das enzimas desaturases, que convertem os AGS em AGM e AGPI, sendo estas estimuladas por altas concentrações de sal. Curiosamente, Yang *et al.* (2023) e Pandit; Fulekar; Karuna, (2017), avaliando o efeito do aumento de salinidade em ácidos graxos com o mesmo gênero *Chlorella*, obtiveram resultados opostos (i.e., aumento de AGS e redução de AGI), porém atribuindo o papel às mesmas enzimas. Nota-se, então, que há uma divergência na literatura. Todavia, pode-se conferir dita contradição à diferença entre os meios de cultivo, já que estes utilizaram meios sintéticos, enquanto aqueles e o presente trabalho utilizaram efluentes industriais.

Já no que tange à comparação ao trabalho de Silva *et al.* (2022), a Tabela 11 claramente evidencia um contraste entre o cultivo de meio sintético BG-11, controle, dos demais tratamentos levados a cabo neste trabalho. Por exemplo, a soma dos AGS, bem como a dos AGM foram superiores aos cultivos com os resíduos, ao passo que a soma do AGI foi inferior. Ora, para aquele caso, o microrganismo não fora submetido a fontes variadas de estresse físico e químico, como altas salinidades, e tampouco a excesso ou limitação de nutrientes. Como o perfil dos ácidos graxos depende, inexoravelmente, do meio de cultivo, é sabido que o cultivo com resíduos tenderá a apresentar um perfil qualitativamente e quantitativamente diferente dos meios sintéticos, conforme apresentado por Katiyar *et al.* (2017) e Carvalho *et al.* (2018), utilizando o glicerol; e Silva *et al.* (2022) e Silva *et al.* (2023) para a água produzida. Em que pese essa diferença entre os meios, por vezes inferiores para os resíduos, cabe salientar um aspecto interessante que os tratamentos deste trabalho apresentaram em destaque: Os ácidos graxos C16:0, C18:2 e C18:3 foram substancialmente superiores aos do controle. Três

aplicações comerciais podem se beneficiar desta particularidade. Primeiramente o biodiesel, o que justifica ser o bioproduto mais estudado até o presente momento para cultivos em AP; o nutracêutico ômega-3, que requer o avanço de mais pesquisas, sobretudo de ensaios toxicológicos para comprovar a sua inocuidade à saúde animal e humana, e inibidores de corrosão verde. Conforme destacado na revisão bibliográfica, Khanra *et al.* (2018) e Oliveira *et al.* (2021) estudaram esses ácidos graxos provenientes, respectivamente, da *Scenedesmus sp.* and *Chlorella sorokiniana* para aplicação de um inibidor de corrosão verde. Embora estes autores tenham realizado cultivos com os meios sintéticos, observa-se, através da análise dos estudos supracitados, que há uma possível relação positiva entre o cultivo das microalgas com resíduos e uma produção acentuada daqueles três ácidos graxos, especialmente para a água produzida. Assim, ter-se-á uma janela de pesquisa relevante que se abre para trabalhos futuros, onde este pode ser um bioproduto em potencial para a aplicação de diversos setores industriais, substituindo os inibidores sintéticos de corrosão que são, geralmente, danosos ao meio ambiente (Pessôa *et al.*, 2022).

Tabela 12 – Propriedades do biodiesel produzido para os diferentes tratamentos

Propriedade do biodiesel	Tratamentos					Normas		
	APSTSS	APCTSS	APSTCS	APCTCS	Controle de Silva <i>et al.</i> (2022)	ANP 1607120	ASTM D6751	EN 14214
Número de Cetano	53,70	46,18	50,08	48,47	60,37	>= 45	>= 47	>= 51
Valor de saponificação	166,14	207,07	206,75	199,65	222,60	-	-	- <= 120
Valor de iodo (g iodo/100g)	113,00	117,66	100,39	111,74	46,30	-	-	g/100g
Grau de insaturação (%)	101,05	105,38	88,03	96,41	68,76	-	-	-
Fator de saturação de cadeia longa (%)	2,10	2,87	4,98	4,02	27,12	-	-	-
Ponto de entupimento do filtro a frio (°C)	-9,88	-7,47	-0,84	-3,84	68,73	-	-	-
Viscosidade cinemática (mm ² /s)	4,46	4,43	4,54	4,46		3-6	1,9-6,0	3,5-5,0
Densidade (kg/L)	0,88	0,88	0,88	0,88		0,85- 0,9		0,86-0,9
Poder calorífico superior (MJ/kg)	40,62	40,71	40,01	40,61		-	-	-

As propriedades foram calculadas analiticamente, de acordo com a metodologia de Nascimento *et al.* (2013); onde APSTSS e APCTSS: água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; APSTCS e APCTCS: água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manípueira.

Fonte: Elaborados pelo autor (2024)

Para fins comparativos, pode-se avaliar os resultados acima com as normas existentes (e.g., brasileira ANP 07/2008, americana ASTM D6751 e europeia EN 14214) que estabelecem os requisitos mínimos para alguns parâmetros de combustão do biodiesel. Dentre eles, o número de cetano (CN), que vem a ser um indicativo de qualidade do combustível pela sua facilidade de autoignição, é estipulado em 45, 47 e 51, respectivamente. Desse modo, todos os tratamentos da Tabela 12 estariam adequados à norma brasileira. Para a norma americana, apenas o APCTSS não estaria apto e, já para a europeia, somente o APSTSS se enquadraria.

Com relação ao índice valor de saponificação (VS), este indica a quantidade de álcali (i.e., KOH ou NaOH) necessária para saponificar 1 g de óleo. Durante a produção do biodiesel, como a reação de saponificação pode interferir na reação de transesterificação, um VS maior pode ser indesejável, pois sugere uma maior presença de impurezas e uma menor conversão dos óleos vegetais em ésteres de biodiesel (Silva *et al.*, 2023). Na falta de uma padronização que seja comparativa deste índice, pode-se utilizar os valores obtidos convencionalmente para os óleos de palma (192-202); óleo de soja (189-195) e óleo de girassol (188-194) (Cardoso *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2023). Assim, considerando os tratamentos com resíduos, à exceção do APSTSS e APSTCS, os outros apresentaram-se com valores ligeiramente acima do limite superior do óleo de palma (i.e., 206,75 e 207,07, sendo APSTCS e APCTSS), respectivamente. Todavia, a despeito disto, todos os tratamentos demonstraram valores excepcionalmente inferiores ao controle.

No que tange ao índice de iodo (IV), este vem a ser um parâmetro-chave para a qualidade do biodiesel, uma vez que está diretamente relacionado ao grau de insaturação (GI) nos óleos. Altos níveis de insaturação podem resultar na polimerização de glicerídeos e na formação de depósitos, isto é, trata-se de um indicativo da capacidade de resistência à oxidação e tendência à formação dos produtos de degradação (ANP, 2021; Nascimento *et al.*, 2013). Contrariamente ao informado por Silva *et al.* (2022) e seguido por Silva *et al.* (2023), a norma brasileira não especifica um valor limite de IV, tampouco a ASTM, sendo apenas a norma europeia EN 14214 que restringe o valor para inferior ou igual a 120 g de iodo/100g de óleo (ANP, 2021). Notavelmente, todos os tratamentos do presente trabalho se enquadraram na mesma.

O ponto de entupimento do filtro (PEFF) a frio é usado para prever o desempenho do fluxo de biodiesel em baixas temperaturas (ANP, 2021). As propriedades induzidas pela baixa temperatura estão principalmente relacionadas aos AGS, em especial às cadeias essencialmente lineares e sem dobras, o que facilita o empilhamento das mesmas. Em outras palavras, apresentam maiores interações intermoleculares e, conseqüentemente, cristalizam em

temperaturas maiores, em relação aos insaturados. Assim, torna-se torna possível prever o PEFf a partir do teor de AGS, utilizando o fator de saturação cadeia longa (FSCL) (ZHANG *et al.*, 2018). Ou seja, quanto maior o FSCL, maior será o PEFf. Portanto, foi alcançado um PEFf mais promissor para os tratamentos do presente trabalho (e.g., de -8 até -0,84 °C), em comparação ao controle (e.g., 68 °C), indicando um biodiesel com uma performance superior em temperaturas frias. Essa característica pode ser de interesse econômico; pois, considerando a hipótese de o Brasil tornar-se um exportador de biodiesel de microalgas futuramente, os países das zonas temperadas e frias seguramente se tornariam mercados em potencial

No tocante à viscosidade cinemática (VC) e a densidade, todos os tratamentos enquadraram-se às normas de referência, conforme a Tabela 12. A VC é uma medida da dificuldade do fluxo de um líquido devido à fricção interna entre suas partes, influenciando no processo de injeção de combustível. De maneira geral, uma viscosidade mais elevada resulta em uma menor capacidade de atomização do combustível, o que por sua vez provoca uma combustão menos eficiente e, conseqüentemente, níveis mais elevados de emissões (Zhang *et al.*, 2018). Já a propriedade do poder calorífico superior (PCS) refere-se à quantidade de energia térmica liberada por unidade de combustível quando este é completamente queimado. A Tabela 12 evidencia que praticamente não há diferença entre os valores encontrados neste trabalho. Embora não seja passível de comparação com as normas pela sua inexistência nas mesmas, os valores encontrados exibiram uma ordem de grandeza similar aos reportados por Muhammad *et al.* (2022), bem como Zhang *et al.* (2018). Portanto, de uma maneira geral, salvo o NC da norma europeia, mais de um biodiesel produzido neste trabalho mostrou-se conforme a norma nacional e internacional, apresentando-se potencialmente promissor por utilizar efluentes industriais em parte da sua composição. Entretanto, há um debate em curso sobre a viabilidade econômica real do biodiesel de microalgas, principalmente devido à intensidade energética do processo de secagem e extração de lipídios (Fernández *et al.*, 2021). Por exemplo, Muhammad *et al.* (2022) destacam que a análise do ciclo de vida, uma tecnologia-chave para avaliar o desempenho ambiental dos processos, revelou que 90% do consumo de energia na produção de biodiesel por *C. vulgaris* é atribuído àquelas duas operações unitárias. Os mesmos pesquisadores defendem uma nova via tecnológica para reduzir esses obstáculos, que consiste na transesterificação direta úmida, isto é, a realização simultânea da extração e transesterificação, prescindindo da etapa de secagem (Chang *et al.*, 2020; Muhammad *et al.*, 2022). Decerto, as tecnologias apresentarão os seus benefícios e desafios, mas o contexto mercadológico será a principal força motriz para a viabilização do biodiesel de microalgas. Se por um lado há contexto geopolítico de um mundo ainda fortemente dependente dos combustíveis fósseis

competitivos economicamente; de outro, há, conforme salientado por Fernández *et al.* (2021), a possibilidade de associar o biodiesel de algas a outros produtos de alto valor agregado, juntamente com a perspectiva de biorrefinaria e descarbonização que, sem dúvidas, poderão catalisar significativamente esta agenda.

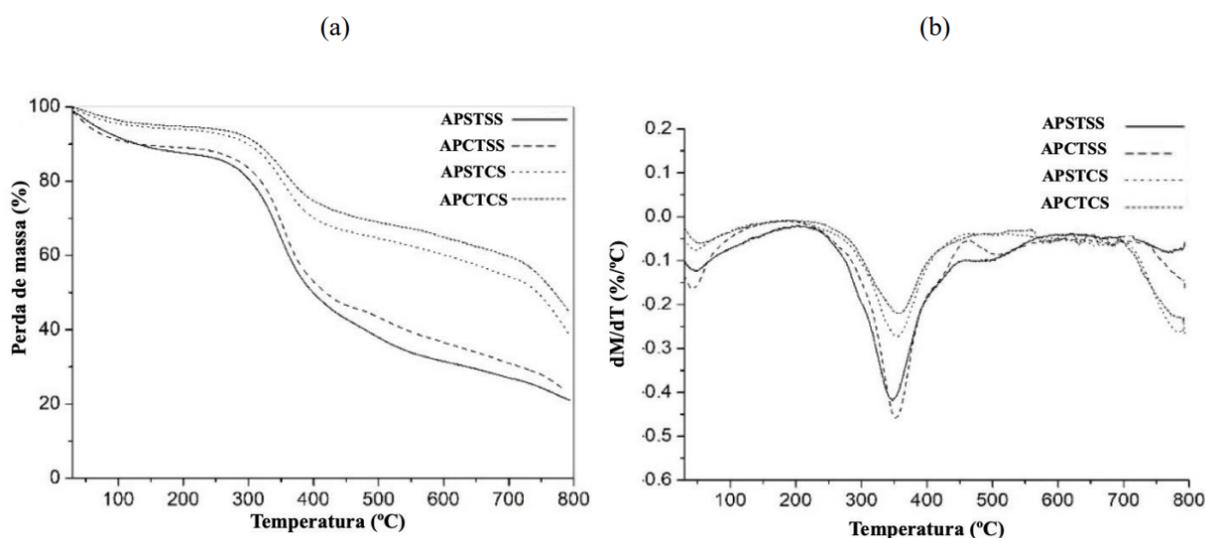
4.3.2 Análise de TG da biomassa

As curvas de TGA mostraram diferentes perfis de decomposição térmica entre as biomassas, conforme Figura 42. A temperatura de degradação inicial (T_{onset}), de APSTSS, APSTCS, APCTCS e APCTSS foram 29,11; 27,30; 39,99 e 48,39 °C, respectivamente. Os tratamentos APCTCS e APCTSS apresentaram maior T_{onset} , indicando que a utilização do carvão ativado para tratar AP resultou em uma biomassa com maior estabilidade térmica. Os tratamentos APCTCS e APSTCS sofreram menor perda de massa que os tratamentos APCTSS e APSTSS. Além disso, os tratamentos sem suplementação apresentaram também comportamento térmico similar entre si. Estas associações podem estar relacionadas à presença da manipueira nos cultivos, que devido à sua composição, estimula a síntese de macromoléculas como carboidratos pelas microalgas, tornando-as mais estáveis termicamente. Resultados similares foram observados por Andrade *et al.* (2019), onde houve um aumento de T_{onset} da biomassa produzida no 1º (49,7 °C), 2º (30,1 °C) e 3º (32,0 °C) ciclos do meio reaproveitado em relação ao controle (26,4 °C), indicando uma maior estabilidade térmica da *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em meio reaproveitado.

As curvas de DTG apontaram a presença de três eventos térmicos em todos os tratamentos. Atribui-se o primeiro evento à desidratação prévia da amostra, ocorrendo em baixa intensidade devido ao processo de liofilização, onde os tratamentos apresentaram umidade de 1,49 % (APCTSS), 0,60 % (APSTCS), 0,56 % (APCTCS) e 0,49 % (APSTSS). Este evento também está relacionado à dissipação de água e compostos voláteis leves, ocorrendo na faixa de temperatura de 25 até 150 °C (Jesus *et al.*, 2018). Neste estudo, o primeiro evento foi registrado em temperatura de degradação máxima em APCTCS (51,46 °C), APCTSS (47,61 °C), APSTCS (47,36 °C) e APSTSS (44,10 °C) com perda de massa de 1,98; 0,95; 4,12 e 2,71 %, respectivamente. O segundo evento está relacionado a despolimerização, descarboxilação e degradação de compostos como lipídios, proteínas, carboidratos e outros componentes menores que formam a biomassa da microalga, que após a pirólise são transformados em compostos voláteis (Costa *et al.*, 2018). Os tratamentos APSTSS (355,10 °C), APSTCS (354,80 °C),

APCTCS (358,58 °C) e APCTSS (346,72 °C) apresentaram máxima degradação na faixa de temperatura de 200 – 450 °C, correspondentes aos picos de pirólise de lipídios, proteínas e carboidratos em microalgas (Wang *et al.* 2017).

Figura 42 – Perfil de decomposição térmica das amostras, TGA à esquerda; à direita, curvas de derivada DTG



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Um terceiro evento foi observado em APSTSS a 511,40 °C que corresponde à decomposição do carbono residual e compostos inorgânicos, como as cinzas (Jesus *et al.*, 2018). Ademais, elevados teores de cinzas foram observados nos tratamentos APCTCS (64,77%); APSTCS (59,99%); APCTSS (36,47%) e APSTSS (31,40%) resultado da associação do teor de cinzas na biomassa que varia significativamente com as espécies, localização geográfica e condições de cultivo a degradação dos compostos inorgânicos adsorvidos pela célula microalgal. Sendo o principal componente da temperatura de decomposição térmica final do resíduo sólido, cinza e carvão (Xu *et al.* 2014; Raheem *et al.* 2015). Observa-se, também, nos tratamentos APSTSS, APSTCS e APCTCS a partir de 700 °C, o início da formação de um terceiro evento, interrompido pela amplitude térmica máxima do método empregado (800 °C). Segundo Arif *et al.* (2021), durante a última fase, os compostos termicamente estáveis são decompostos a 600-800 °C e ocorre a formação de *biochar*. Portanto, como mais um bioproduto em potencial dentro da perspectiva da biorrefinaria, o surgimento deste evento, mesmo que incompleto, pode indicar a formação de *biochar* nos respectivos tratamentos do estudo. De forma integrada, o *biochar* do próprio resíduo da biomassa pode ser utilizado para pré-tratar a AP, em substituição ao carvão ativado, como um novo bio-adsorvente, trazendo ainda mais

competitividade e sustentabilidade para a biorrefinaria de microalgas (Kadri *et al.*, 2024; Pessoa *et al.*, 2022).

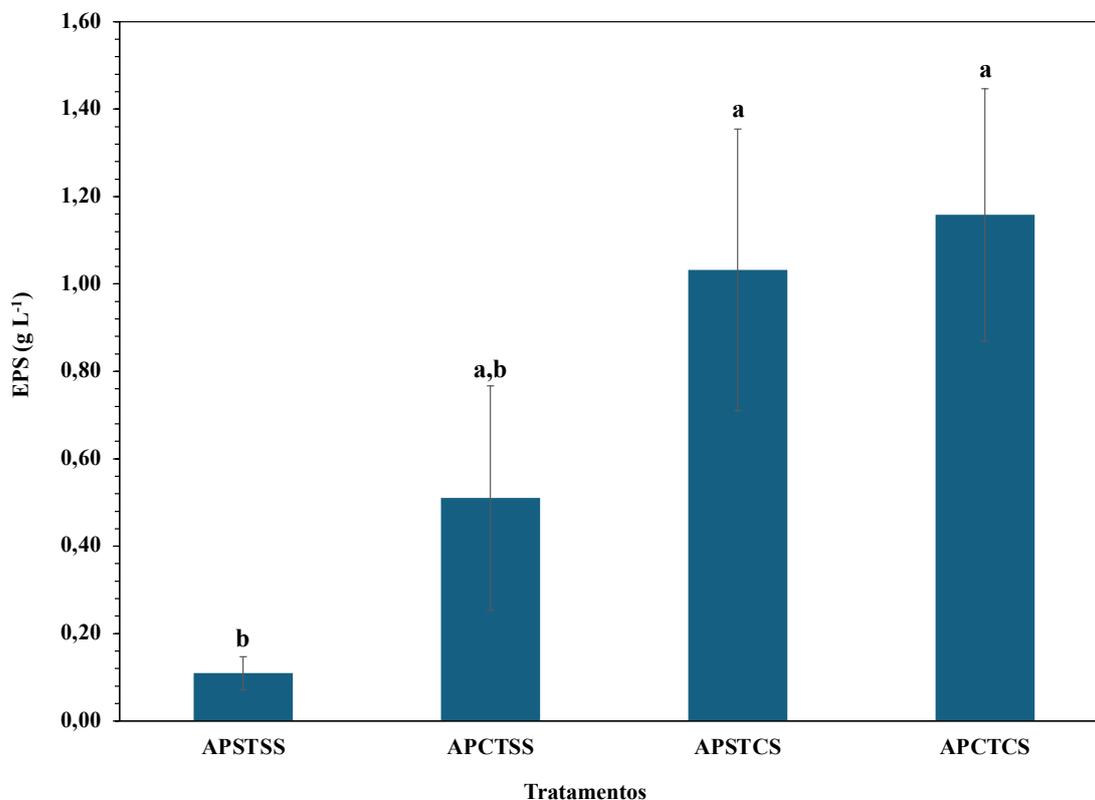
4.3.3 Produção e caracterização das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em função dos tratamentos realizados

A biomassa foi o foco dos resultados anteriores. Para complementar uma abordagem de biorrefinaria, é essencial analisar as substâncias poliméricas extracelulares (EPS), um tema ainda incipiente na biotecnologia de microalgas.

Os EPS produzidos por microalgas são biopolímeros de alto peso molecular com composições bioquímicas variadas, desempenhando papéis cruciais na proteção celular, estabilização de agregados microbianos, adsorção de nutrientes e eficiência na remoção de poluentes em tratamentos de águas residuais (Wu *et al.*, 2023; Zhou *et al.*, 2024). Embora a produção de EPS por microalgas ainda esteja em estágio inicial, novas tecnologias e pesquisas podem transformar essa área, oferecendo soluções sustentáveis e inovadoras (Pierre *et al.*, 2019). Para isso, é essencial compreender profundamente as características estruturais e funcionais desses biopolímeros e otimizar as condições de cultivo para explorar plenamente seu potencial (Wang *et al.*, 2022; Zhou *et al.*, 2024).

Um dos potenciais promissores é o uso dos EPS como modificadores de reologia (Belachqer-El Attar *et al.*, 2023; Pierre *et al.*, 2019). Assim, neste trabalho, esses biopolímeros foram extraídos do sobrenadante e analisados quanto aos seus potenciais reológicos. A Figura 43 compara os tratamentos em relação à produção de EPS.

Figura 43 – Resultados gravimétricos dos EPS em função do tratamento realizado



- Letras iguais indicam que não há diferença significativa, ($p > 0,05$), dentro de um intervalo de confiança de 95% para o teste post- hoc Tukey. (APSTSS e APCTSS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; (APSTCS e APCTCS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manipueira.

Pode-se analisar o efeito da suplementação e o do pré-tratamento da AP nos valores da gravimetria do EPS. Para o primeiro caso, observa-se que as maiores médias de produção foram para os tratamentos suplementados (e.g., APSTCS com 1,03 g L⁻¹ e APCTCS com 1,16 g L⁻¹) que se diferem estatisticamente do tratamento sem a suplementação (i.e., APSTSS). Uma maior razão C/N pode ser conjecturada como indutora de EPS, já que o excesso de nutrientes é um dos fatores desencadeantes da biossíntese destas macromoléculas por parte das microalgas, visando reservas de carbono e energia para as células (Li *et al.*, 2020; Morais *et al.*, 2022; Moreira *et al.*, 2022). Em contrapartida, analisando-se o efeito do pré-tratamento da água, nota-se pela Figura 43 que este não foi estatisticamente significativo nem quando conjugado com a suplementação.

Cabe salientar que os valores encontrados neste trabalho para os tratamentos com maior média são superiores aos reportados na literatura e inéditos no contexto da utilização da água produzida. Nenhum dos estudos sistematizados no Quadro 3 avaliou a produção de EPS,

destacando a originalidade dos achados desta tese e a necessidade de compará-los na literatura com outros tipos de efluentes.

Por exemplo, Rana e Prajapati (2021) relataram uma produção de 0,46 g L⁻¹ de EPS cultivando *Chlorella pyrenoidosa* num fotobioreator de 3,5 L com água residual sintética não esterilizada, suplementando com 3 g L⁻¹ de glicerol; enquanto Zhang, Liu e Chen (2019) reportaram uma concentração de EPS de 0,36 g L⁻¹, utilizando meio BG-11 com 5 g L⁻¹ de glicose. Carvalho *et al.* (2018), cultivando heterotroficamente a *Chlorella vulgaris* suplementada com 2,5 g L⁻¹ de glicerol, chegaram a um valor máximo de 1,05 g L⁻¹ de EPS.

Portanto, os dados sugerem que suplementação com a manipueira desempenhou um papel-chave, impulsionando a produção de EPS. Considerando uma perspectiva de biorrefinaria em que seja relevante a produção simultânea de biomassa e biopolímeros, conforme demonstrado na seção da cinética e complementada neste tópico, o melhor tratamento seria, dentro deste domínio experimental, pré-tratar a AP e suplementá-la (i.e., APCTCS). Pode-se, contudo, indagar o papel do ponto APCTSS, já que o mesmo, pelo ensaio de Tukey, não aparentou diferença estatística para os demais pontos da Figura 43. Isto significaria, na prática, que ele poderia ser o ponto mais promissor para a produção de EPS, contradizendo os resultados anteriores. Para o devido esclarecimento e confirmação, o test-t foi realizado de acordo com a Tabela 13.

Tabela 13 – Aplicação do Test-t para determinar o tratamento mais promissor para a produção de EP

Tratamento	Média e desvio	p-valor	Resolução
APCTCS	1,16 ± 0,29	0,044	São diferentes
APCTSS	0,51 ± 0,26		

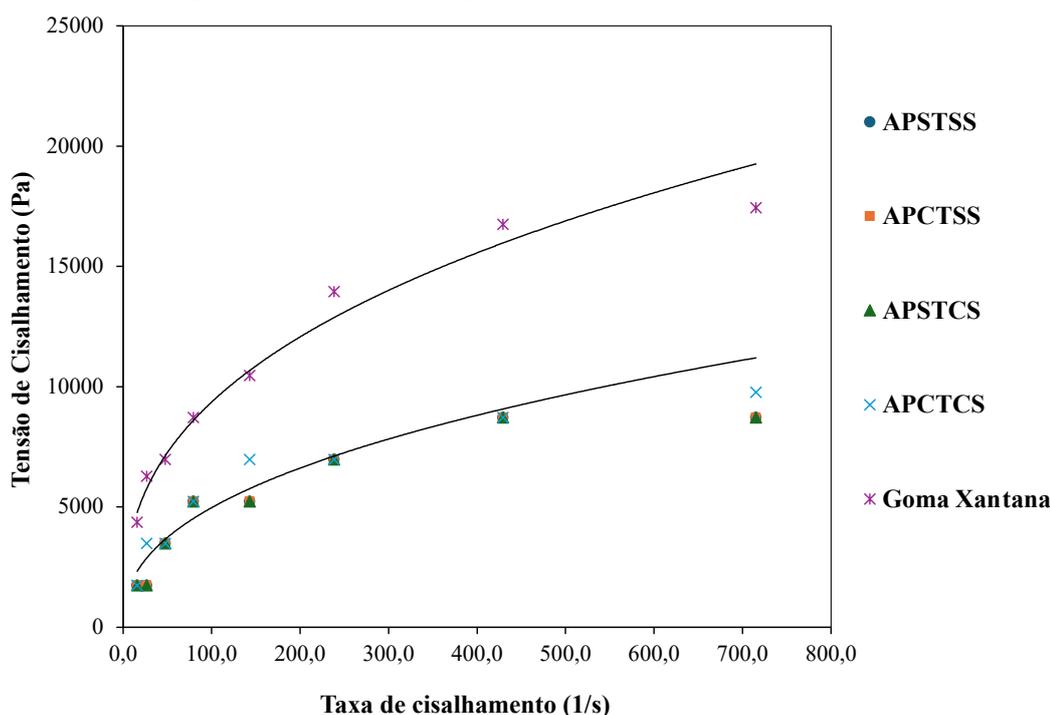
Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

A Tabela 13 demonstra que ($p < 0,05$), ou seja, rejeita-se a hipótese nula de que os grupos são semelhantes e não apresentam variância. Portanto, há diferença estatística entre suplementar e não suplementar, isto é, o APCTCS apresenta-se, efetivamente, como melhor opção entre os demais para a produção de EPS.

No que concerne à caracterização reológica, a Figura 44 ilustra a tensão cisalhante *versus* o gradiente de velocidade (taxa de cisalhamento) para o EPS produzido pela *C. vulgaris*, comparando-o com a goma xantana comercial (GXC), amplamente utilizada como aditivo viscosificante em fluidos de perfuração (Bhat *et al.*, 2022; Brandão *et al.*, 2013).

Como o comportamento gráfico das funções é não linear, os fluidos analisados são não-newtonianos, com todos os índices de fluxo ($n < 1$), caracterizando-os como fluidos pseudoplásticos. Esses fluidos apresentam uma diminuição da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento, o que é vantajoso para aplicações industriais, como aditivos para fluidos de perfuração na indústria do petróleo, pois menores viscosidades resultam em menores perdas de carga no poço (Souza; Luporino; Rigoli, 2017).

Figura 44 – Comparação entre as curvas de escoamento dos fluidos não-newtonianos (EPS) e a GXS, aplicando o modelo de “power-law” ou Ostwald-de Waele



- (APSTSS e APCTSS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; (APSTCS e APCTCS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manípueira.

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Assim, a equação de Ostwald-de Waele modelou com precisão os dados experimentais para uma função potência, pois o coeficiente de determinação foi maior ou aproximadamente 0,9 para todos os biopolímeros, de acordo com a Tabela 14.

Tabela 14 – Ajuste do modelo de potência para cada tratamento

Tratamento	Ajuste ao modelo de <i>Power Law</i>	Coefficiente de determinação
GXC	$y = 2386,5x^{0,28}$	$R^2 = 0,92$
APCTCS	$y = 1325,6x^{0,30}$	$R^2 = 0,91$
APSTCS	$y = 1010,50x^{0,35}$	$R^2 = 0,87$
APCTSS	$y = 718,41x^{0,40}$	$R^2 = 0,93$
APSTSS	$y = 506,44x^{0,46}$	$R^2 = 0,92$

- O expoente da função consiste no índice de fluxo (n), ao passo que o índice de consistência (K), que se encontra multiplicando o “X”, refere-se à constante de proporcionalidade da lei de potência. (APSTSS e APCTSS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; (APSTCS e APCTCS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manípueira

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

A Tabela14 revela que os índices de fluxo (n) e de consistência (K) seguiram uma tendência inversa: à medida que K aumentou, n diminuiu. Esse comportamento é coerente tanto do ponto de vista matemático quanto físico, pois um aumento na constante de proporcionalidade da lei de potência indica uma maior divergência em relação ao comportamento de um fluido newtoniano, resultando em um valor de n menor (i.e., tendendo a zero).

Entre os tratamentos, observa-se uma proeminência para o polímero comercial, cujo índice de consistência (K) (2386,5) apresentou um valor de 1,8 vezes superior em relação ao APCTCS (1325,6) e quase 5 vezes ao APSTSS (506,4). Enquanto baixos valores de n são almejados para facilitar a injeção do fluido e melhorar a taxa de perfuração, altos valores de K implicam numa melhor performance dos fluidos de perfuração e recuperação terciária de petróleo, haja vista que uma alta viscosidade é necessária para manter em suspensão os cascalhos gerados durante a perfuração (Brandão, 2012). Desta forma, a ordem da performance do K e n para os tratamentos seria: GXC > APCTCS > APSTCS > APCTSS > APSTSS. Note que essa ordem está em convergência com os resultados de gravimetria da Figura 13, isto é, uma maior produção de EPS sugeriu, também, uma melhor performance reológica, devido aos maiores índices de consistência e de fluxo. Um resumo dos parâmetros reológicos para todos os tratamentos pode ser visualizado na Tabela 14, fixando-se um ponto padrão de 25°C, 25 s⁻¹ na Figura 44.

Tabela 15 – Parâmetros reológicos em função dos tratamentos realizados e a sua comparação com o biopolímero comercial

Parâmetro	Tratamentos				
	APSTSS	APCTSS	APSTCS	APCTCS	Xantana Sigma
Viscosidade Aparente mPa.s*	90,67	103,60	117,87	139,13	236,10
k (Pa.s ⁿ)	506,44	718,41	1010,50	1325,60	2386,5
n	0,46	0,40	0,38	0,30	0,28
R ²	0,92	0,93	0,88	0,93	0,97

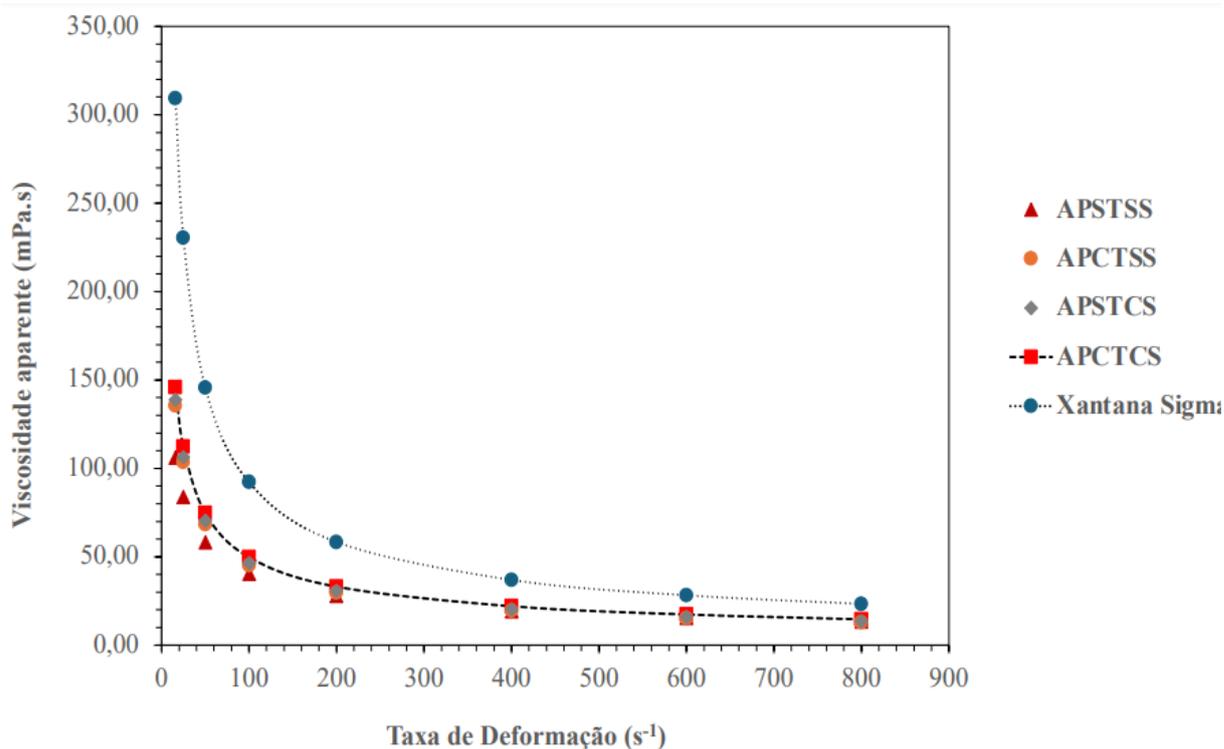
- *solução 0,4% (m/v), 25°C, 25 s⁻¹. (APSTSS e APCTSS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, e sem suplementação; (APSTCS e APCTCS): água produzida sem e com tratamento, respectivamente, mas com suplementação de manípueira. O expoente da função potência consiste no índice de fluxo (**n**), ao passo que o índice de consistência (**K**), refere-se à constante de proporcionalidade da lei de potência.

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Para um valor comumente empregado como referencial de 25 s⁻¹, a viscosidade aparente (η) da GXC foi de 236,10 mPa.s e de 139,13 para o (APCTCS), isto é, aproximadamente 1,7 vezes inferior ao biopolímero comercial. Essa diferença, a despeito de estarem na mesma ordem de grandeza, pode ser justificada sob três aspectos diferentes: (i) os biopolímeros provêm de diferentes origens microbianas; (ii) a GXC empregada é um biopolímero comercial, purificada e com aditivos; (iii) a GXC procede de cepas melhoradas geneticamente com a finalidade de maximização deste bioproduto de interesse. Para atender às necessidades de reologia e solubilidade da indústria do petróleo, modificações químicas de goma xantana são amplamente aplicadas para melhorar o efeito de espessamento, solubilidade e estabilidade térmica (Xia *et al.*, 2020).

Portanto, embora os perfis reológicos sejam semelhantes, os valores do EPS são naturalmente inferiores aos da GXS, pois o EPS não passou por um processo de purificação por diálise, nem pela inserção de aditivos, e foi produzido por um microrganismo sem modificação genética. No entanto, observa-se de forma notável na Figura 45 que, à medida que os valores da taxa de deformação aumentam, os comportamentos dos EPS de microalgas gradualmente se assemelham aos do biopolímero comercial.

Figura 45 – Comparação entre a viscosidade aparente entre os EPS de microalgas e a Goma Xantana comercial para diferentes taxas de cisalhamento

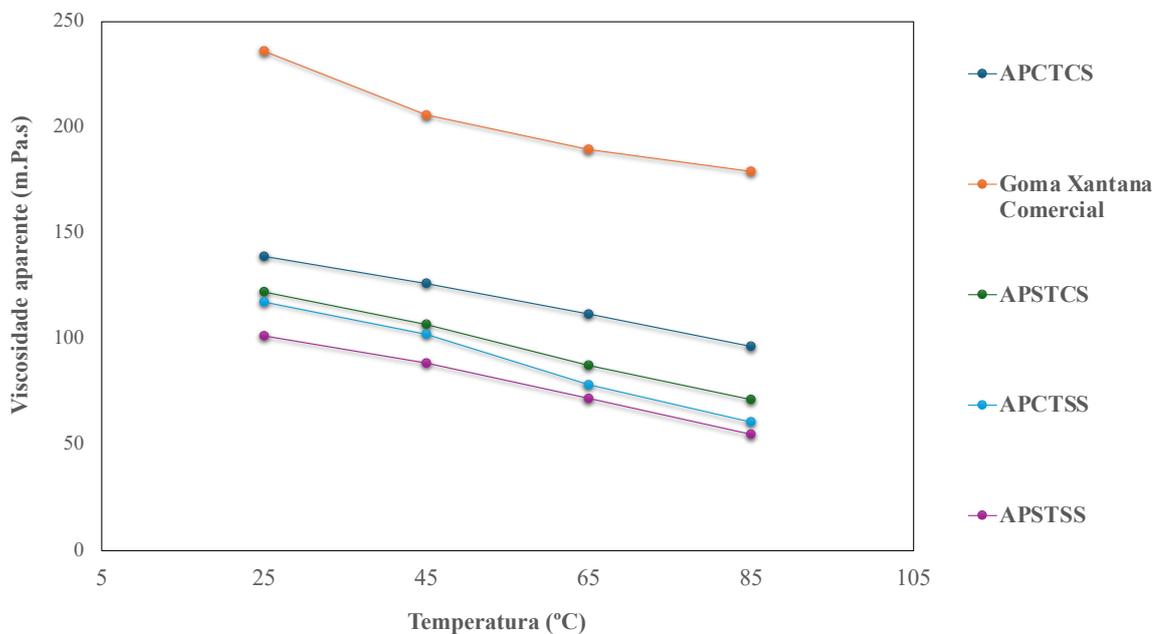


Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

É possível identificar uma melhor performance para o ponto APCTCS durante todo o espectro de taxas de deformação, e, de forma contrária, uma menor performance para o APSTSS. Assim, os dados sugerem que há uma convergência entre uma maior gravimetria do EPS (Figura 43 e Tabela 13), um melhor índice de consistência (Figura 44 e Tabela 14) e uma maior viscosidade aparente (Figura 44 e Tabela 15) na mesma sequência previamente apresentada (i.e., GXC > APCTCS > APSTCS > APCTSS > APSTSS). Além da pseudoplasticidade, outros atributos são necessários para caracterizar um promissor aditivo viscosificante para a indústria do petróleo, como, por exemplo, estabilidade da viscosidade à salinidade, à temperatura e às condições alcalinas. Essas características facilitam a injeção, em manter os cascalhos em suspensão, auxiliando a remoção dos mesmos para a estabilização das paredes do poço (Brandão, 2012; Xia *et al.*, 2020). De acordo com Xia *et al.*, (2020), uma desvantagem da GXC é a sua não estabilidade em alta salinidade, perdendo de 20-50% da sua viscosidade em salinidades acima de 20%. Assim, o biopolímero produzido nesta tese em ambiente salino pode oferecer uma vantagem potencial em relação à GXC. No entanto, essa hipótese deve ser investigada em pesquisas futuras, principalmente por ser uma característica que pode eventualmente favorecer às microalgas do ponto de vista comercial.

Assim, a Figura 46 ilustra o efeito da temperatura na viscosidade aparente dos EPS e da GXC.

Figura 46 – Comparação entre a viscosidade aparente dos biopolímeros para diferentes temperaturas (25, 45, 65 e 85°C)



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Nota-se um decréscimo da viscosidade aparente com o aumento da temperatura e esse comportamento é fisicamente consistente com a literatura. Essa diminuição pode estar associada às mudanças da conformação das moléculas dos biopolímeros, pois a energia cinética fornecida reduz as interações intermoleculares, permitindo maior mobilidade das cadeias. Ou seja, o fluido fica menos viscoso (Brandão, 2012). O perfil de decaimento da viscosidade é aproximadamente similar para a GXS e o APCTCS, uma vez que o EPS diminuiu em 30% a sua “ η ” em relação ao valor inicial, ao passo que a GXS reduziu em 24%. Para as amostras com suplementação, os dados sugerem uma melhora em relação ao pré-tratamento da AP frente à redução do percentual de viscosidade em função do aumento da temperatura (i.e., APSTCS e APCTCS de 41,59 para 30,62 mPa.s, respectivamente), algo que parece não ter se repetido para o caso da amostra não-suplementada. Ainda assim, a Figura 45 evidencia que os valores de viscosidade aparente em 85° C persistiram na mesma sequência de superioridade uma relação ao outro, análogo aos resultados em 25°C. Portanto, a sequência dos tratamentos (i.e., GXC > APCTCS > APSTCS > APCTSS > APSTSS) também se mostra válida em termos de

estabilidade térmica para este domínio experimental. A Tabela 16 sintetiza os valores de redução em percentual por tipo de tratamento.

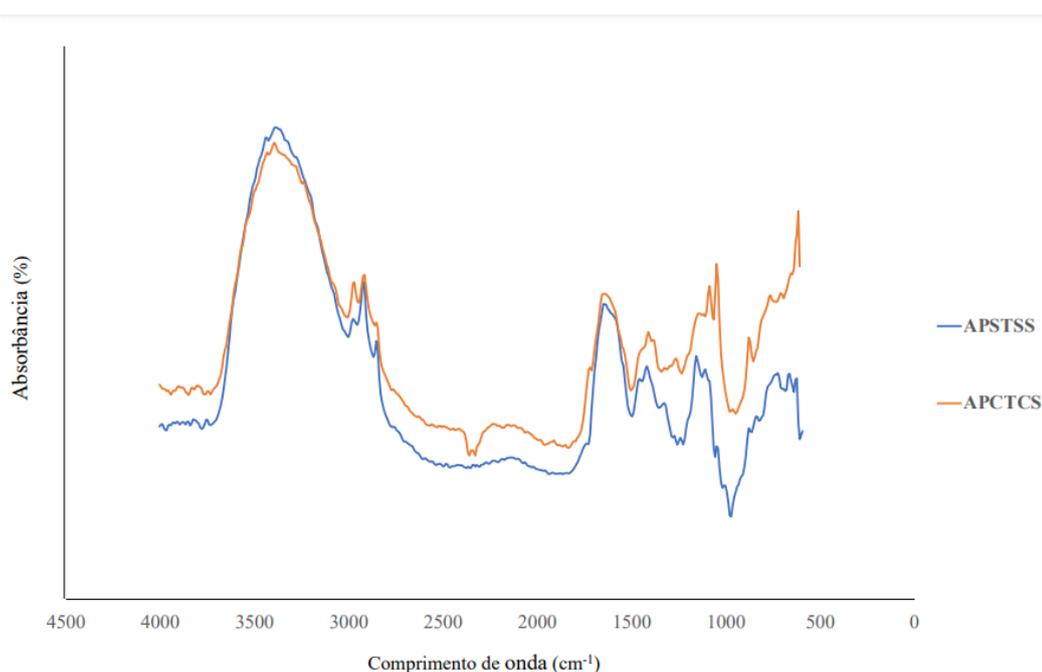
Tabela 16 – Análise comparativa da estabilidade térmica entre as amostras

Amostras	Viscosidade aparente (mPa.s)		
	25 °C	85 °C	Redução em percentual (%)
GXS	236,08	179,25	24,07
APCTCS	139,13	96,53	30,62
APSTCS	122,28	71,41	41,59
APCTSS	117,52	60,77	48,29
APSTSS	101,53	54,99	45,87

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Análises espectroscópicas de FTIR foram realizadas para obter insights sobre a estrutura dos EPS (Figura 47). Essa abordagem não destrutiva pode identificar diversos grupos funcionais, além de demonstrar sensibilidade na revelação da estrutura intrincada de polissacarídeos tanto em contextos vegetais quanto de microalgas (Cardoso *et al.*, 2023). Esses grupos funcionais podem auxiliar no entendimento da melhor performance reológica.

Figura 47 – Espectro do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) com ATR para a comparação dos tratamentos APSTSS e APCTCS



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Nota-se a presença de bandas proeminentes em ambas as amostras com diferentes intensidades. A banda mais intensa em $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ foi atribuída à vibração de estiramento do –OH, o que indica interações das cadeias de polissacarídeos e presença de água. A segunda banda em $\sim 2921,72\text{ cm}^{-1}$ se deve ao estiramento e flexão do C–H. As bandas de absorção em $(1350\text{--}1650)\text{ cm}^{-1}$, associadas aos grupos carbonila e carboxila, sugerem a possível presença de ácido urônico nos polissacarídeos, mas também podem estar associadas às aminas primárias e secundárias, isto é, a presença de proteínas (Cardoso *et al.* 2023; Qian *et al.*, 2018). Ressalta-se a região $(1200\text{--}800)\text{ cm}^{-1}$, pois esta faixa apresenta diversos modos vibracionais correspondentes ao tipo de polissacarídeo e ligações glicosídicas, isto é, podem ser causados pelas vibrações de estiramento dos grupos laterais C–O–H e das vibrações da banda glicosídica C–O–C (Castro; Doinati; Vera, 2023; Kazachenko *et al.* 2021).

Em geral, observa-se que as amostras demonstraram picos típicos de polissacarídeos e proteínas, sendo, portanto, um heteropolímero. Salvo a primeira banda, as demais se mostraram com sinais mais elevados para a amostra com pré-tratamento e suplementação (APCTCS). A presença mais acentuada destes grupos funcionais pode estar relacionada com a melhor performance reológica, assim como decorrente dos resultados de gravimetria expostos nas seções anteriores. Portanto, à luz de uma transposição de escala em futuros trabalhos, mostra-se que gravimetricamente, reologicamente e estruturalmente a amostra APCTCS foi superior neste trabalho em relação as demais.

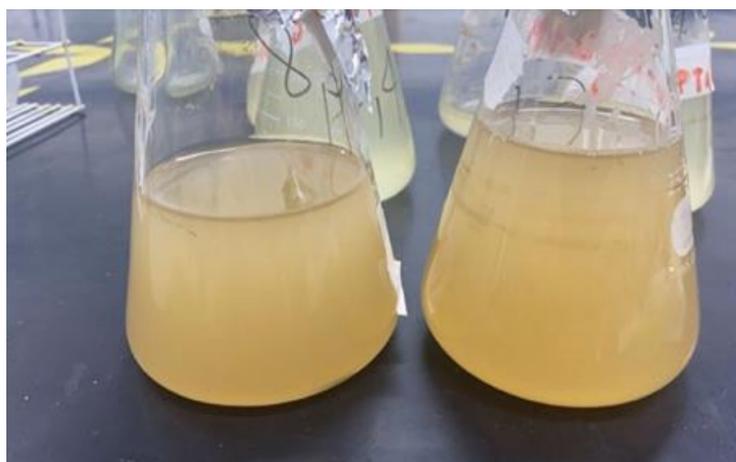
Por fim, além dos potenciais tecnológicos supracitados, um campo emergente na biotecnologia de microalgas é a utilização dos EPS para a produção de nanopartículas metálicas (Navaro Gallón *et al.*, 2019). Segundo Pierre *et al.* (2019), o futuro dos EPS de microalgas deve explorar nichos de mercado que não compitam com os polissacarídeos de plantas terrestres, macroalgas, bactérias ou fungos. Embora essa recomendação seja relativa, dada a versatilidade das biorrefinarias de microalgas e as vantagens ambientais, como créditos de carbono e circularidade, que podem tornar os EPS mais competitivos, uma área potencial destacada pelos pesquisadores é a utilização desses biopolímeros para a síntese "verde" de nanomateriais. Sendo este um bioproduto estratégico para a perspectiva de biorrefinaria desta tese, abordar-se-á este potencial no tópico seguinte.

4.3.4 Estudo prospectivo das nanopartículas

Após a finalizado os cultivos e a etapa de separação da biomassa, notou-se que o sobrenadante dos pontos suplementados apresentara uma coloração laranja-amarronzada Figura

48. Levantou-se, assim, a hipótese de que a suplementação pudera haver desencadeado a formação de um outro bioproduto em potencial. O resultado de varredura UV-VIS revelou um pico atípico para sobrenadantes de microalgas, de comprimento de onda entre 360-380 nm que, de acordo com a literatura, sugere a presença de nanopartículas metálicas (NPM), em especial as de prata (Melo Jr. et al., 2012; Navaro Gallón et al., 2019; Mora-Godínez; Abril-Martínez; Pacheco, 2022).

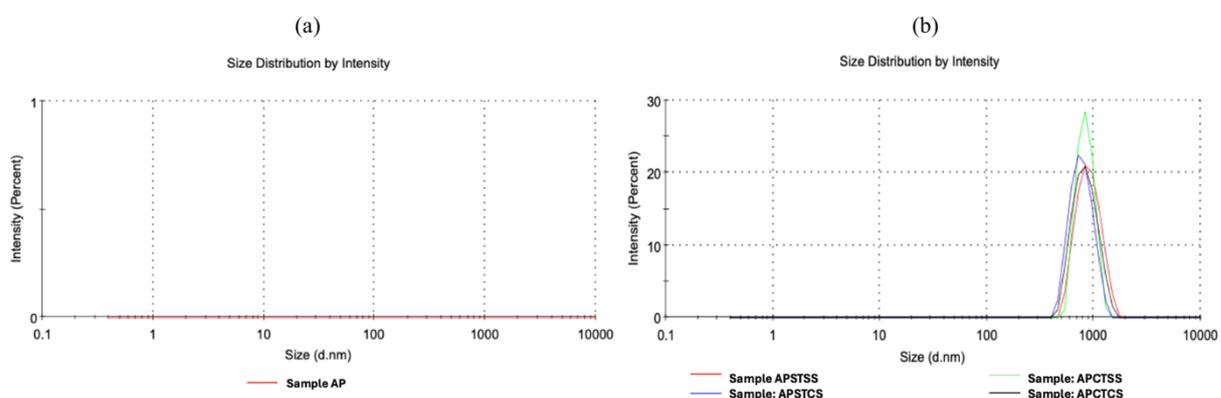
Figura 48 – Sobrenadantes dos pontos suplementados (APSTCS e APCTCS)



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Os resultados do DLS da Figura 49 ilustram a diferença entre a análise da água produzida bruta in natura (a) e os sobrenadantes de todos os cultivos, isto é, amostras pós-cultivo com a *C. vulgaris*.

Figura 49 – DLS da água bruta (b) e dos sobrenadantes dos tratamentos



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Observa-se que, enquanto na Figura 49 (a) não se encontraram picos, (b) apresentou picos para todos os tratamentos estudados. Ou seja, o gráfico à esquerda sugere que não havia a presença prévia de nanopartículas na AP. Consequentemente, pode-se inferir que as microalgas foram responsáveis pela produção extracelular de partículas que se enquadraram na escala nano e micro, conforme Tabela 16. Nos sobrenadantes estão presentes os EPS que podem desempenhar uma função de moldes para o crescimento e estabilização de NPMs, sem a adição de qualquer reagente e utilizando água como solvente (Navarro Gallón *et al.*, 2019). Apresentando grupos funcionais redutores (e.g., hidroxila, carboxila e ácidos urônicos), previamente demonstrados no FTIR da seção anterior, os EPS de microalgas podem se ligar e reduzir eficientemente com os íons metálicos do meio, desempenhando um papel-chave de quelação e bioacumulação de metais (Ozturk *et al.*, 2014; Navarro Gallón *et al.*, 2019).

Conforme indicam a Figura 49 (b) e a Tabela 17, os resultados obtidos a partir da análise DLS das amostras de sobrenadantes de cultivos de *C. vulgaris* em AP mostraram-se promissores, indicando a formação de nanopartículas. Contrariamente à hipótese inicialmente levantada de que as nanopartículas estavam restritas às amostras suplementadas com MP (i.e., APSTCS e APCTCS), os dados sugeriram a formação de partículas nos quatro tratamentos realizados deste estudo.

Tabela 17 – Caracterização das nanopartículas

Parâmetros	Valor
Z-average (d.nm)	778,2
PDI	0,110
Intercept	0,904
Result quality	Good
Peak 1 (Size d.nm)	842,0
Peak 1 (st dev)	218,1

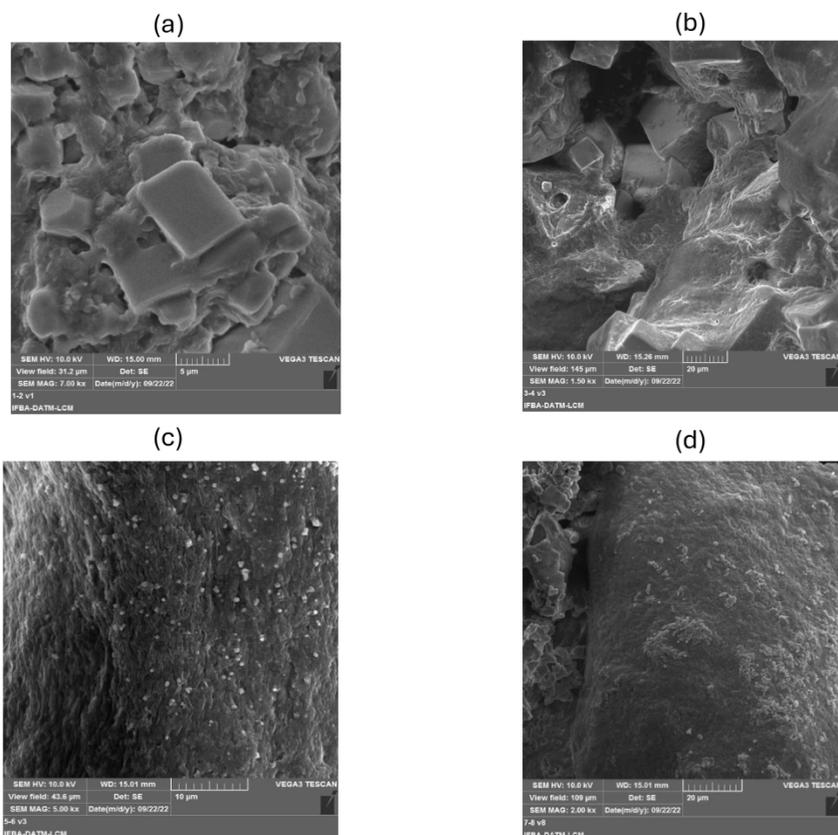
Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

O *Z-average* (tamanho hidrodinâmico médio) foi de 778,2 nm, sugerindo que as partículas ou agregados presentes têm um tamanho médio relativamente grande, o que pode ser atribuído à formação de agregados ou complexos de partículas. O Índice de Polidispersidade (PDI) de 0,110 revela uma distribuição de tamanho bastante estreita, indicando que as partículas são relativamente uniformes em tamanho. Esse resultado é positivo, pois a uniformidade do tamanho das nanopartículas é um fator crucial que contribui significativamente para a melhoria

das propriedades e da eficiência em diversas aplicações tecnológicas. Desde a medicina e biotecnologia até a eletrônica e energia, as nanopartículas uniformes proporcionam reatividade controlada, maior estabilidade, e resultados mais consistentes, ampliando suas potencialidades tecnológicas (Altammar, 2023). O valor do intercepto de 0,904 foi positivo, já que este parâmetro está relacionado à qualidade da correlação, onde acima de 0,8 indica pouco ruído na linha de base e uma boa correlação de dados (Misirili, 2021).

O pico principal (Peak 1) encontrado a 842,0 nm, com um desvio padrão de 218,1 nm, indica que a maior parte das partículas na amostra tem um tamanho em torno desse valor. Embora haja alguma variação no tamanho das partículas, o baixo PDI sugere que essa variação está dentro de uma faixa razoável. Em conclusão, a análise DLS aponta que os sobrenadantes dos cultivos de *C. vulgaris* em efluentes industriais contêm potencialmente nanopartículas e micropartículas uniformes e estáveis. Em seguida, a realização da microscopia de varredura (Figura 50) possibilitou conhecer a morfologia das partículas originadas e as suas diferenças de acordo com os tratamentos estudados.

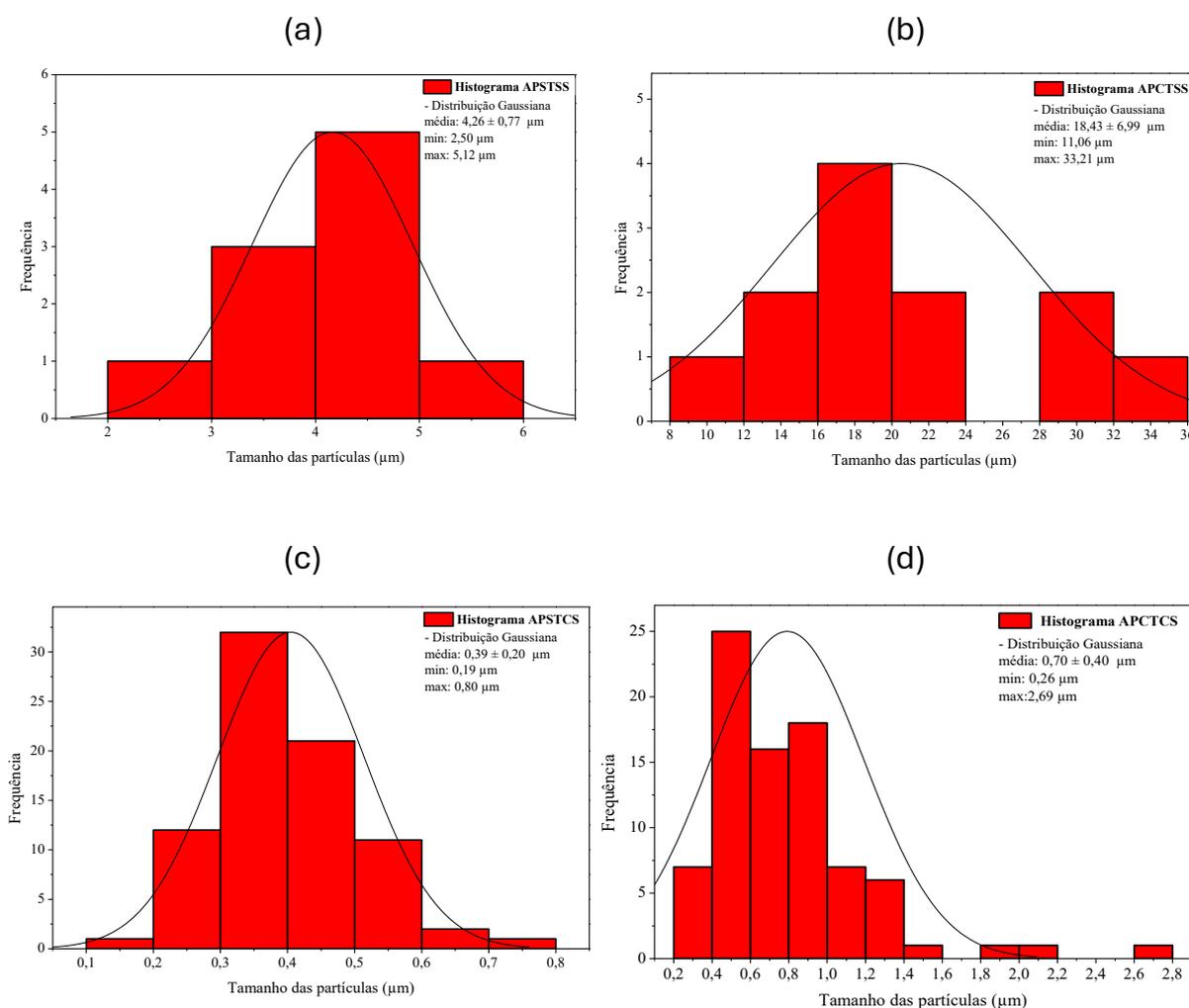
Figura 50 – Microscopia de varredura eletrônica dos sobrenadantes (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Independentemente do tratamento realizado, as imagens revelam alguns elementos em comum: (i) as partículas estão envoltas e queladas numa matriz polimérica; (ii) apresentam um formato cúbico, (iii) há zonas de aglomeração das mesmas. Em síntese, tem-se a formação de um biocompósito (EPS-partículas) obtido a partir dos efluentes AP e manipeira numa abordagem circular. A Figura 51 comprova a dimensão medida, demonstrando o efeito dos tratamentos na distribuição de tamanho.

Figura 51 –Histogramas para as micrografias (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS



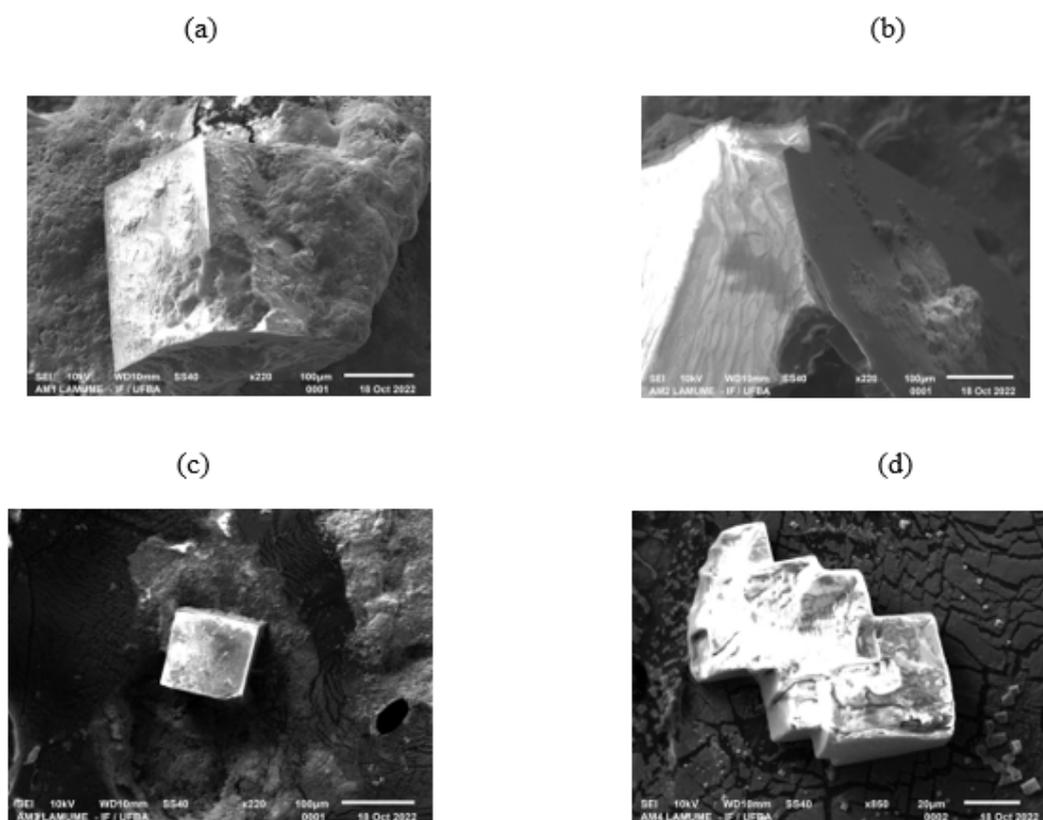
Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Não obstante os dados do DLS tenham sugerido uma presença de nanopartículas nos sobrenadantes, as imagens acima indicam um tamanho condizente a escala micro. Todavia, como os resultados foram em base ao MEV e não à micrografia eletrônica de transição (MET), eles não foram definitivamente conclusivos. Os resultados de tamanho obtidos por TEM tendem a ser mais precisos e reais do que os obtidos por DLS. Em geral, os tamanhos medidos pelo

TEM são menores, porque essa técnica captura a projeção exata das partículas através do fluxo de elétrons. Em contraste, o DLS mede o raio hidrodinâmico das partículas, que é ligeiramente maior que o tamanho real devido à camada de solvatação ao redor das partículas (Misirli, 2021).

Ainda assim, pode-se constatar a formação de um biocompósito (EPS-micropartículas). Com relação aos efeitos do pré-tratamento e suplementação, observa-se que a água tratada culminou, respectivamente, em partículas maiores (e.g., 18,43 *versus* 4,26 para a e b) e (e.g., 0,7 *versus* 0,39 para c e d). Por outro lado, a suplementação desempenhou um papel de diminuição das partículas (4,26 *versus* 0,39 a e c) e (18,43 *versus* 0,7 para b e d), respectivamente. A Figura 52 ilustra uma nova rodada de micrografias, agora após a remoção dos EPS por meio do tratamento térmico.

Figura 52 – Micrografias após a remoção dos EPS (a) APSTSS, (b) APCTSS, (c) APSTCS e (d) APCTCS



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Conforme esperado, nota-se uma presença menos pronunciada da matriz polimérica, principalmente nas amostras suplementas (c e d) em virtude do aquecimento realizado. A visualização do aspecto das partículas, bem como a identificação de sua composição foram facilitadas. A Tabela 18 ilustra a composição centesimal elementar e de óxidos de acordo via EDS.

Tabela 18 – Determinação da composição centesimal elementar para cada tratamento

Elementos	m%			
	APSTSS	APCTSS	APSTCS	APCTCS
C	17,7	12,9	14,3	9,1
O	52,7	42,1	45,0	33,35
Na	5,3	15,7	15,4	25,01
Mg	1,8	1,2	1,0	0,1
Al	0,2	0,0	0,0	0
Si	0,0	0,0	0,0	0
S	0,3	0,0	0,0	0
Cl	16,8	24,0	22,0	31,12
K	0,7	0,4	0,8	0
Ca	4,0	3,5	1,5	0,0
Cu	0,0	0,1	0,1	0,15
W	0,5	0,0	0,0	0,0
Zn	0,0	0,0	0,0	1,16
Total:	100	100	100	100

Element Óxidos	m%			
	APSTSS	APCTSS	APSTCS	APCTCS
CO ₂	64,8	47,2	52,5	33,3
Na ₂ O	7,1	21,2	20,7	33,7
MgO	2,9	2,0	1,6	0,0
Al ₂ O ₃	0,4	0,0	0,0	0,2
K ₂ O	0,9	0,5	0,9	0,0
CaO	5,7	5,0	2,1	0,0
CuO	0,0	0,1	0,1	0,2
WO ₃	0,7	0,0	0,0	0,0
ZnO	0,0	0,0	0,0	1,5
Total:	83,25	75,99	77,97	68,88

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Os resultados do EDS demonstram que as amostras contêm uma variedade de óxidos que formam micropartículas integradas aos EPS. A suplementação com manipueira teve um impacto significativo, observável na comparação entre os tratamentos. Na comparação entre APSTSS e APSTCS, a suplementação com manipueira aumentou as concentrações de Na e Cl, reduzindo as concentrações de C, O. Por outro lado, comparando APCTSS com APCTCS, observou-se um aumento ainda maior de Na e Cl, além da introdução de Zn, sugerindo que a manipueira fornece nutrientes adicionais importantes para a formação dos óxidos.

Além disso, o pré-tratamento da AP também afetou a composição do biocompósito. Comparando APSTSS e APCTSS, bem como APCTCS e APSTCS APCTCS, notou-se uma diminuição significativa nos níveis de C e O, e um aumento nos níveis de Na, Cl e Zn. Estes resultados sugerem, juntamente com os discutidos na seção anterior de EPS, que o pré-tratamento e a suplementação de manipueira não só alteraram a composição elementar, mas também potencialmente as propriedades reológicas dos biocompósitos. Por conseguinte, no contexto da biorrefinaria, este bioproduto pode conferir características inovadoras ao EPS a ser utilizado como aditivo viscosificante. Embora seja um campo emergente na literatura, o estudo da utilização de nanopartículas para a indústria do petróleo tem sido promissor, principalmente na recuperação avançada de petróleo (Alsaba; Al Dushaishi; Abbas, 2020; Hendraningrat; Torsaeter, 2015). Dado o seu pequeno tamanho e imensa relação superfície-volume, as nanopartículas podem penetrar nos poros e alterar consideravelmente as propriedades do reservatório para aumentar a produtividade de recuperação de óleo em até 20% (Agista; Guo; Yu, 2018; Alsaba; Al Dushaishi; Abbas, 2020).

Os nano-óxidos têm sido especialmente estudados, como, por exemplo, Na₂O, Al₂O₃, MgO, ZnO e SiO₂, garantindo múltiplos benefícios (e.g., melhoramento das propriedades reológicas, redução da tensão superficial entre o óleo e a água, estabilização das espumas do gás injetado, melhoria das propriedades mecânicas da etapa de cimentação) (Alkalbani; Chala; Alkalbani, 2023; Alsaba *et al.*, 2020; Luo; Ren, 2021; Khoramian; Kharrat; Golshokooh, 2022). Como neste trabalho o tratamento APCTCS produziu um EPS com melhor performance reológica, observa-se que este também apresentou maiores concentrações de Na₂O e ZnO entre os demais pontos. Ainda que apenas comprovadamente micropartículas, estes óxidos podem ter desencadeado uma melhoria nas propriedades reológicas do biocompósito. Assim, este é um novo e promissor horizonte de pesquisa a ser explorado dentro da bioeconomia circular de microalgas, sobretudo por ser, dentre os estudos supracitados e pelo melhor do nosso conhecimento, o primeiro a abordar essa integração entre os resíduos e a *C. vulgaris*.

4.4 MATRIZ DE DOEHLERT PARA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS E OTIMIZAÇÃO

A sistematização dos estudos de microalgas em AP na revisão bibliográfica desta tese revelou a iniciativa incipiente dos pesquisadores tentarem substituir os meios de cultivo sintéticos por efluentes industriais. No entanto, a fim de que se possa transpor a escala de cultivos laboratoriais para plantas piloto, faz-se imprescindível um estudo prévio de otimização que revele a natureza dos efeitos, individuais e simultâneos, das concentrações destes efluentes nas variáveis-resposta, isto é, na biomassa e nos bioprodutos de interesse, buscando as suas respectivas maximizações. Em outras palavras, conforme preconizado pela NBR ISO 16290, é preciso dominar mais a fenomenologia em questão para avançar na escala de maturidade tecnológica – *technology readiness level* (TRL). Conforme salientou Zhou *et al.* (2024), a otimização das condições de cultivo é essencial para superar as barreiras atuais e explorar plenamente o potencial dos EPS de microalgas. Nesse sentido, a Tabela 19 ilustra a matriz codificada e decodificada de experimentos realizada para o planejamento estatístico de segunda ordem, a matriz de Doehlert.

Tabela 19 – Resultados da matriz de Doehlert para a produção de EPS e Biomassa por *C. vulgaris* em função das variáveis independentes concentração de manípueira, água produzida e agitação. PC refere-se ao ponto central que foi repetido três vezes

<i>Matriz (decodificada / codificada) – C. vulgaris</i>					
	Manípueira (%)	AP (%)	Agitação (rpm)	EPS (g L ⁻¹)	Biomassa
1	10,0 / (1,0)	26,0/ (0,0)	140/ (0,0)	1,41	1,60
2	7,6/ (0,5)	50,0/ (0,866)	140(0,0)	2,06	1,00
3	7,6/ (0,5)	34,0/ (0,289)	200/ (0,817)	1,33	1,30
4	0,2/ (-1,0)	26,0/ (0,0)	140/ (0,0)	0,30	0,55
5	2,7/ (-0,5)	2,0/ (-0,866)	140/ (0,0)	0,09	0,34
6	2,7/ (-0,5)	18,0/ (-0,289)	80/ (-0,817)	0,31	0,78
7	7,6/ (0,5)	2,0/ (-0,866)	140/ (0,0)	0,22	0,80
8	7,6/ (0,5)	18,0/ (-0,289)	80/ (-0,817)	0,92	0,94
9	2,7/ (-0,5)	50,0/ (0,866)	140/ (0,0)	0,87	0,76
10	5,1/ (0,0)	42,0/ (0,577)	80/ (-0,817)	1,04	0,82
11	2,7/ (-0,5)	34,0/ (0,289)	200/ (0,817)	0,70	0,66
12	5,1/ (0,0)	10,0/ (-0,577)	200/ (0,817)	0,65	1,10
13(PC)	5,1/ (0,0)	26,0/ (0,0)	140/ (0,0)	1,02	1,50
14(PC)	5,1/ (0,0)	26,0/ (0,0)	140/ (0,0)	0,71	1,00
15(PC)	5,1/ (0,0)	26,0/ (0,0)	140/ (0,0)	1,16	1,62

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Com o intuito de identificar a influência entre as três variáveis independentes (e.g., manipueira, AP e agitação) na produção de biomassa e EPS, realizou-se uma regressão múltipla, inicialmente para a biomassa, de acordo com a Tabela 20:

Tabela 20 – Coeficientes da regressão múltipla para a produção de biomassa

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p-valor*	Limite inferior	Limite superior
Intercepto	1,37	0,13	10,22	0,002	1,06	1,69
Manipueira	0,45	0,13	3,35	0,044	0,13	0,77
AP	0,11	0,134	0,83	0,467	-0,2	0,43
Agitação	0,11	0,134	0,8	0,483	-0,21	0,42
(Manipueira ²)	-0,3	0,23	-1,28	0,291	-0,84	0,25
(AP²)	-0,76	0,23	-3,29	0,046	-1,31	-0,22
(Agitação ²)	-0,39	0,22	-1,79	0,483	-0,91	0,12
Manipueira×AP	-0,13	0,31	-0,4	0,171	-0,86	0,6
Manipueira ×Agitação	0,34	0,35	0,98	0,709	-0,48	1,15
AP ×Manipueira	-0,22	0,35	0,64	0,569	-1,04	0,59

*Utilizou-se um intervalo de confiança de 90%.

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Analisando-se os resultados da regressão, verifica-se que, para este domínio experimental, o efeito linear da manipueira e o quadrático da água produzida foram estatisticamente significantes (p-valor < 0,1) para a produção de biomassa. Por um lado, nota-se um efeito positivo da manipueira, bioquimicamente consistente com o seu papel de suplementação de nitrogênio, fósforo e carbono para as microalgas que são macronutrientes-chave para o desenvolvimento da biomassa microalgal; de outro, tem-se um efeito negativo da água produzida, sendo este o maior entre os demais. Dentre as barreiras da água produzida que foram mapeadas e ilustradas na seção (2.6.1), o aumento de concentração da AP desencadeia, sobretudo, num aumento de salinidade; o que pode elevar substancialmente o gradiente da pressão osmótica para o interior da célula, obstaculizando, portanto, o seu crescimento.

A regressão dos dados gerou um modelo polinomial de segunda ordem para a produção de biomassa por *C. vulgaris*.

Biomassa (X)= 1,37 + 0,449(manipueira) - 0,297(manipueira)² + 0,111(água produzida) - 0,764(água produzida)² +1,107(agitação) - 0,393(agitação)² -0,127(manipueira).(água produzida) + 0,338(manipueira).(água produzida) - 0,220(água produzida).(agitação).

Para verificar se a equação acima é estatisticamente significativa, realizou-se como passo seguinte a Análise de Variância (ANOVA), de acordo com a Tabela 21. Como (p -valor $< 0,1$) e ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$), conclui-se que o modelo é preditivo, demonstrando um coeficiente de determinação de 86,4%. Esse valor indica que 15,6% da variabilidade residual dos dados não é explicada por este modelo.

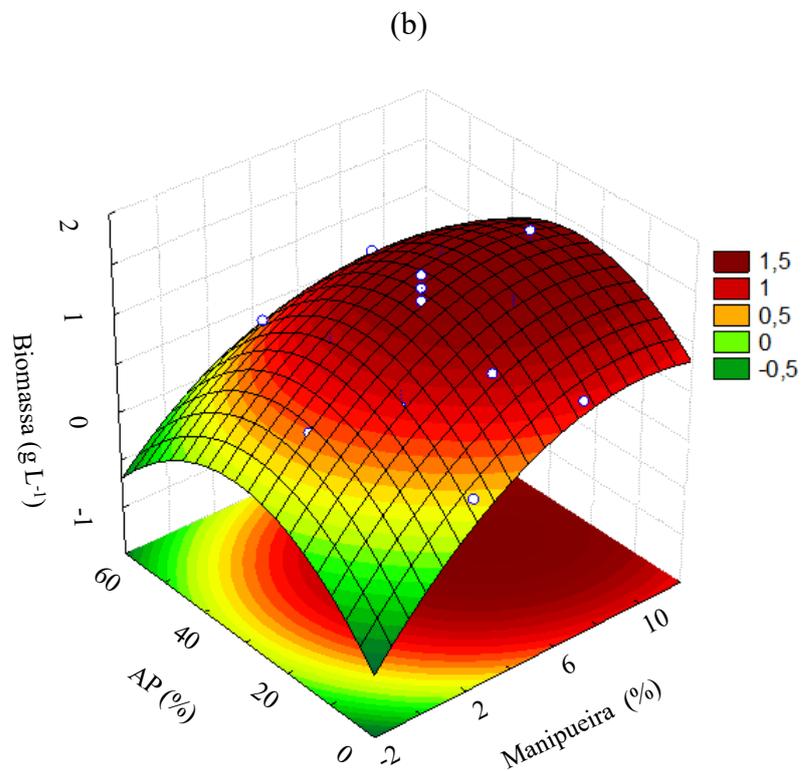
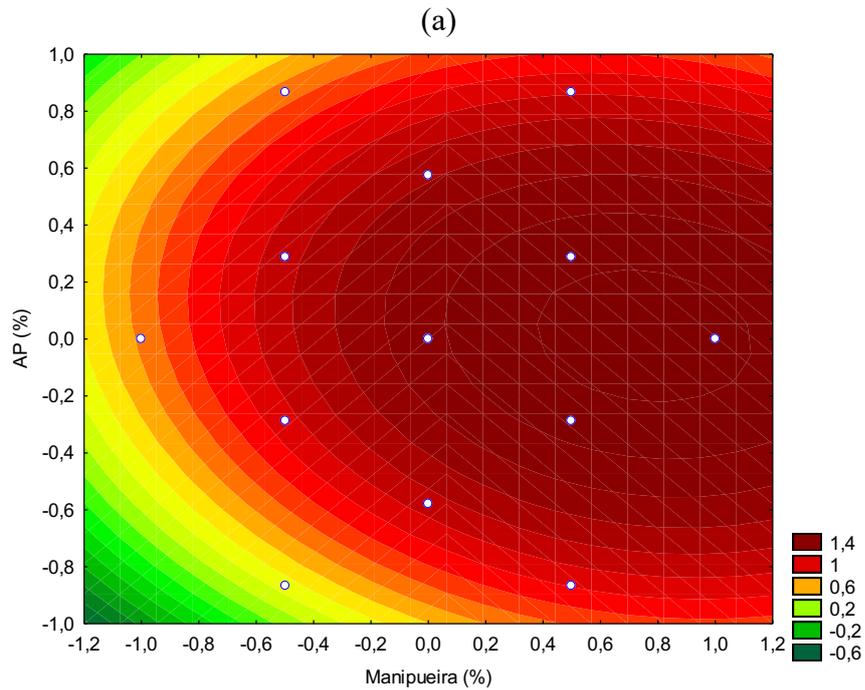
Tabela 21 – Análise de variância (ANOVA) para avaliação estatística do modelo de produção de biomassa por *C. vulgaris*

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F Calculado	F Tabelado
Regressão	1,869	9	0,208	4,23	4,10
Resíduo	0,295	6	0,049		
Falta de ajuste	0,079	3	0,026	0,36	9,28
Erro puro	0,216	3	0,072		
Total	2,164	15	0,144		
R²			0,864		

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Uma vez que o modelo foi estatisticamente significativo, foi possível plotar a curva de nível e a superfície de resposta (Figura 53 (a) e (b)), respectivamente, as quais ilustram a variação da concentração de biomassa de *C. vulgaris* em função das concentrações de manipueira e AP.

Figura 53 – Curva de nível (a) e superfície de resposta (b) para a concentração de biomassa



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

De acordo com a Figura 53 (a) e (b), a concentração de biomassa da *C. vulgaris* aumenta em função da manipueira e da AP. Fixando-se a manipueira em (0,2%), observa-se que os

microrganismos não conseguem atingir valores substanciais de crescimento à medida que se incrementa a AP, pois não adentra a região avermelhada do gráfico. Esta evidência ilustra que somente os macronutrientes BG-11 não foram suficientes para elevar o crescimento microalgal, o que faz sentido, já que a *C. vulgaris* fora aclimatada em um ambiente mais hostil, potencialmente requisitando maiores demandas dos macronutrientes em relação à cultura sintética. Contudo, à medida que se incrementam as concentrações de manipueira, as curvas de nível vão se aproximando mais rapidamente das tonalidades amarronzadas, sobretudo a partir de 5%. Assim, a faixa de trabalho que promoveu a maior concentração de biomassa para este domínio experimental foi entre **5-12% de manipueira e 26-30% de AP**. A partir de 30% de AP, em contrapartida, nota-se uma redução gradativa do crescimento o que, como explicado anteriormente, pode estar associado ao aumento expressivo de salinidade no meio. Note que o efeito quadrático negativo pode ser entendido como uma concavidade voltada para baixo, isto é, inicialmente o aumento de AP promove uma maior resposta de biomassa; porém, extrapolado o ponto de inflexão (i.e., aproximadamente 30%), essa resposta começa a diminuir com o aumento da concentração deste efluente.

Já em relação ao metabólito secundário de alto valor agregado, a Tabela 22 aborda os coeficientes da regressão múltipla que foram significativos para a produção dos EPS.

Tabela 22 – Coeficientes da regressão múltipla para a produção dos EPS

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p-valor*	Limite inferior	Limite superior
Intercepto	0,94	0,09	10,18	0,002	0,74	1,19
Manipueira	0,60	0,09	6,30	0,008	0,37	0,82
(Manipueira ²)	-0,11	0,16	-0,65	0,564	-0,49	0,28
AP	0,68	0,09	7,19	0,005	-0,46	0,90
(AP ²)	-0,17	0,16	-1,06	0,366	-0,56	0,21
Agitação	0,08	0,09	0,87	0,450	-0,14	0,30
(Agitação ²)	-0,13	0,15	0,90	0,435	-0,50	0,22
Manipueira×AP	0,61	0,22	-2,80	0,068	-0,09	1,13
Manipueira×Agitação	0,20	0,24	-0,84	0,460	-0,78	0,36
AP×Agitação	-0,06	0,24	-0,24	0,820	-0,64	0,51

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Observando-se os resultados da regressão, nota-se que, para este domínio experimental, três fatores foram estatisticamente significantes (p-valor < 0,1) na produção dos biopolímeros

extracelulares: o efeito linear da manípueira e AP, bem como o efeito proveniente da interação entre Manípueira×AP. Em termos de magnitude, os valores foram similares e positivos.

Em seguida, a regressão dos dados gerou um modelo polinomial de segunda ordem para produção de EPS por *C. vulgaris*:

$$\text{EPS} = 0,964 + 0,596(\text{manípueira}) - 0,106(\text{manípueira})^2 + 0,680(\text{água produzida}) - 0,174(\text{água produzida})^2 + 0,082(\text{agitação}) - 0,139(\text{agitação})^2 + 0,612(\text{manípueira})(\text{água produzida}) - 0,207(\text{manípueira})(\text{agitação}) - 0,06(\text{água produzida})(\text{agitação})$$

Sequencialmente, realizou-se a ANOVA (Tabela R) para averiguar se a equação acima é estatisticamente significativa. Como (p-valor < 0,1) e ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$) em 3,2 vezes, constata-se que o modelo é preditivo (Tabela 23). O coeficiente de determinação foi de 95,2%, indicando que apenas 4,8 % da variabilidade residual dos dados não pode ser explicada por este modelo. Ou seja, a robustez deste modelo para o bioproduto foi superior ao da biomassa.

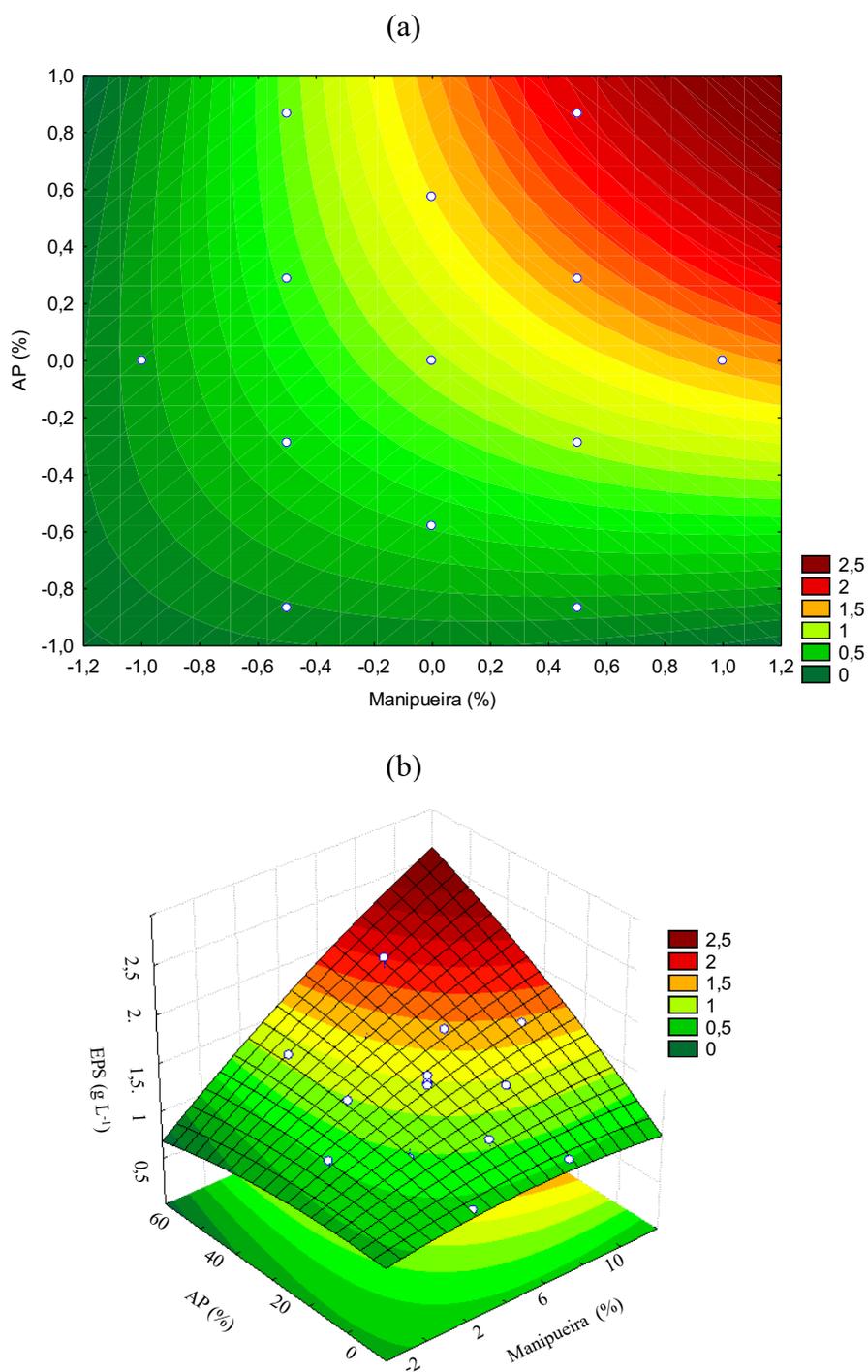
Tabela 23 – Análise de variância (ANOVA) para avaliação estatística do modelo de produção de EPS por *C. vulgaris*

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F Calculado	F Tabelado
Regressão	3,65	9	0,40	13,16	4,1
Resíduo	0,19	6	0,03		
Falta de ajuste	0,07	3	0,03	0,72	9,28
Erro puro	0,11	3	0,04		
Total	3,83	15	0,25		
R²			0,952		

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Em razão do modelo ser estatisticamente significativo, foi possível plotar a curva de nível e a superfície de resposta (Figura 54 (a) e (b)), respectivamente, as quais expressam a variação da produção de EPS com as concentrações de manípueira, AP e o efeito sinérgico entre elas.

Figura 54 – Curva de nível (a) e superfície de resposta (b) para a concentração de EPS



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

De acordo com a Figura 54 (a) e (b), os efeitos dos efluentes isoladamente não propiciaram produções substanciais de EPS, salvo quando associados. Por exemplo, analisando fixamente todo o espectro de concentrações de AP, assim como o da manipueira, as tonalidades do verde praticamente não se alteram, permanecendo na região inferior ao $0,5 \text{ g L}^{-1}$. Por outro lado, considerando-se os pares ordenados desde a região inferior esquerda até a extremidade

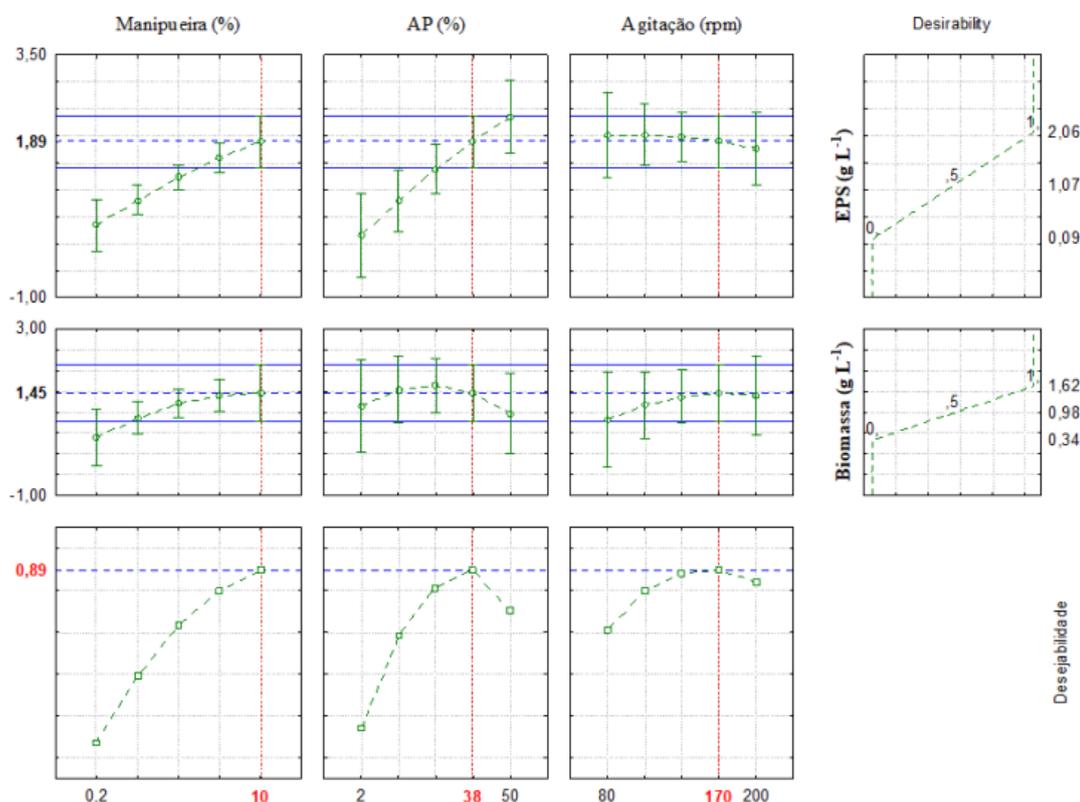
superior, à direita do gráfico, observa-se um aumento gradativo de intensidade nas cores. Além disso, não obstante o domínio experimental tenha sido limitado para encontrar o ponto máximo, observa-se uma região de tendência ótima, indicada na Figura 54 (b).

Conforme ilustrado na Figura 54 (a), a utilização de concentrações de AP maiores ou iguais a aproximadamente 46%, e de concentrações de manipueira maiores ou iguais a aproximadamente 6%, desencadeiam a produção de biopolímeros extracelulares com concentrações maiores ou iguais a 2 g L⁻¹ e menores e iguais a 2,5 g L⁻¹. Nota-se que, aproximando-se desta região, há uma tendência relevante da produção de EPS suplantando a de biomassa, chegando até ao dobro, como ilustrado no segundo ponto da Tabela 19 (i.e., 2,06 g L⁻¹ *versus* 1 g L⁻¹ de biomassa). Conforme destacado por Babbiak e Krzeminska (2021), as condições ótimas para a produção de EPS diferem-se das condições ótimas para o crescimento microalgal. Nesta tese, observa-se o mesmo comportamento. Os fatores que influenciam significativamente na produção de EPS são distintos daqueles que afetam a biomassa. Por exemplo, para a produção de EPS, não houve uma interação negativa da AP; ou seja, poderia-se aumentar a concentração de AP visando à produção de EPS, porém isso influenciaria negativamente a produção de biomassa. Embora a natureza dos efeitos seja inerente ao domínio experimental e, portanto, cada par efluente-microalgas terá um comportamento a ser estudado, alguns autores vêm observando esta possível incompatibilidade. Por essa razão, os pesquisadores têm sugerido a possibilidade de uma dupla estratégia de cultivo: primeiro maximizar a biomassa e, em seguida, os EPS (Babbiak e Krzeminska, 2021; Moreira *et al.*, 2022).

A síntese destes biopolímeros extracelulares pelas microalgas é um processo fisiológico suscitado mediante condições de estresse (Moreira *et al.*, 2022; Xiao e Zheng, 2016). Logo, como apontou a interação estatisticamente significativa Manipueira: AP, dentro da tendência de região ótima do domínio experimental em análise, conjectura-se que fora reunida três condições sinérgicas de stress para a mistura destes efluentes: mixotropia, uma relação alta de C/N e alta salinidade.

Por fim, a análise de desejabilidade global das respostas (Figura 55) determina que, no domínio experimental, a combinação de 10% de manipueira, 38% de AP e 170 rpm de agitação é responsável por maximizar simultaneamente as produções de EPS e biomassa, com previsão de 1,89 e 1,45 g L⁻¹, respectivamente. Além disso, os resultados indicam que a que as condições testadas são 89% desejáveis, sugerindo um excelente equilíbrio entre a produção de EPS e de biomassa. De acordo com a escala de Harrington, que varia numa faixa 0 a 1, esse valor é classificado como excelente (Paula e Fernandes, 2018; Assis Neto *et al.*, 2021).

Figura 55 – Desejabilidade global para otimização simultânea da biomassa e dos EPS



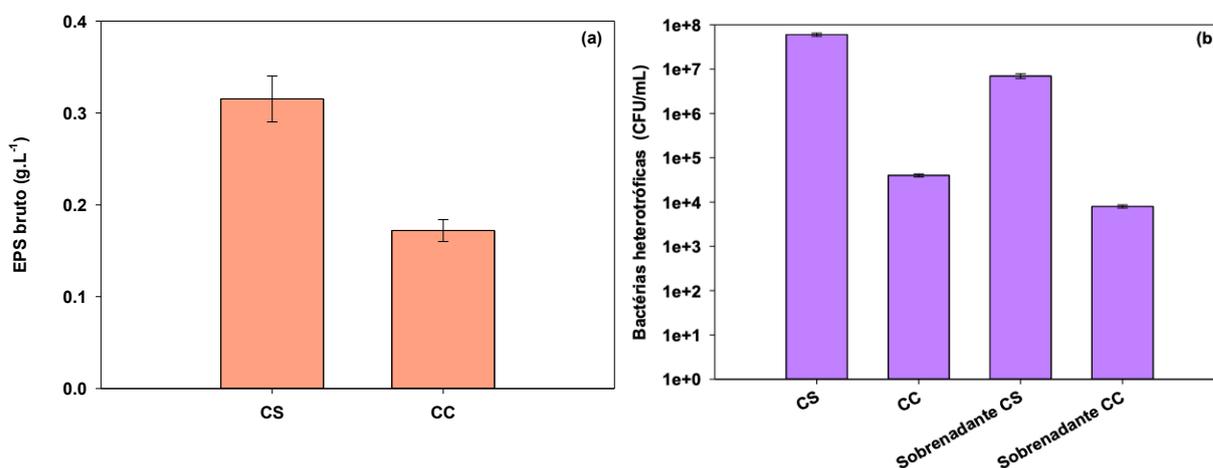
Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

4.5 CULTIVO EM ESCALA PILOTO COM SORO DE LEITE E CONSÓRCIO MICROALGAS-BACTÉRIAS

Este bloco final refere-se à valoração do soro de leite por meio de um consórcio de *C. vulgaris*-bactérias em escala piloto (reator coluna de bolhas, de 100L). O enfoque foi o EPS devido à experiência acumulada no decorrer dos blocos progressos.

O conceito de usar consórcios microalgas-bactérias tem o potencial de aumentar a eficiência na remoção de nutrientes nos processos de tratamento de águas residuais, assim como aumentar produção de EPS por meio de interações mútuas e efeitos sinérgicos (Fallahi *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2023). Assim, pensando em escalas comerciais trabalhando com efluentes industriais, avaliar a produção de EPS em culturas de microalgas requer considerar a presença de bactérias que possam favorecer a sua produção (Belachqer-El Attar *et al.*, 2023). De acordo com a Figura 56 (a), a concentração média do EPS proveniente da coluna soro (CS) foi de $0,32 \text{ g L}^{-1}$ comparada ao da coluna controle (CC) $0,17 \text{ g L}^{-1}$, isto é, quase o dobro quando adicionado o resíduo.

Figura 56 – (a) Resultado da concentração de EPS extraído da coluna de soro de leite (CS) e controle de coluna (CC); (b) Concentrações de bactérias heterotróficas antes e após o processo de centrifugação semi-industrial



Fonte: Pessoa et al. (2024)

Alguns fatores podem explicar esse aumento: (i) a presença do resíduo pode estimular a síntese de EPS nas microalgas como um mecanismo de defesa, (ii) a necessidade de os microrganismos expelirem excesso de carbono pode aumentar a produção de EPS, (iii) bactérias no meio podem contribuir para a produção de EPS, ou (iv) uma combinação desses fatores (Babiak; Krzeminska, 2021; Franco-Morgado *et al.*, 2023; Koçer *et al.*, 2021; Perera *et al.*, 2022). Determinar o mecanismo predominante pode ser desafiante, já que este é um tema relativamente emergente na literatura. Por um lado, evidências recentes indicam que o EPS bacteriano mostrou uma tendência de aderir à biomassa ao invés de permanecer livre no sobrenadante (Belachqer-el Attar *et al.*, 2023). Em contraste, Perera *et al.* (2022) demonstrou que o consórcio de microalgas-bactérias produziu mais EPS livre no meio do que as cepas de bactérias e microalgas isoladamente.

De forma comparativa, Zhang *et al.* (2019) relataram uma concentração de EPS em (0,36 g L⁻¹); entretanto, os pesquisadores utilizaram meio BG-11 com uma suplementação de 5 g L⁻¹ de glicose. Como esses resultados são similares aos encontrados para a CS neste trabalho, isso sugere que os resíduos podem produzir concentrações de EPS similares àquelas obtidas com glicose, destacando, mais uma vez, o potencial da substituição de meios sintéticos via valoração de resíduos pela biotecnologia de microalgas. De maneira similar, Rana e Prajapati (2021) também alcançaram 0,46 g L⁻¹ de EPS cultivando *Chlorella pyrenoidosa* em um

fotobiorreator de 3,5 L com efluente sintético não esterilizado, suplementado com $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de glicerol. Contudo, estes autores não discutiram o papel relevante das bactérias na produção de EPS, conforme previamente discutido nesta tese, assim como de acordo ao ilustrado na Figura (56b) por meio da contagem bacteriana antes e após a centrifugação semi-industrial.

Os resultados revelaram a presença de bactérias nas colunas com uma diferença superior a 3 unidades logarítmicas entre o controle ($4\text{E}+04 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$) e aquela suplementada com soro de leite ($6\text{E}+07 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$). Um perfil similar foi obtido para os sobrenadantes. Note que houve uma relação entre as figuras 56(b) e (a), na medida em que a presença do resíduo culminou na presença de mais bactérias e, portanto, numa maior produção de EPS.

Entretanto, referente aos sobrenadantes à direita da figura, a força centrífuga aplicada durante a etapa de separação resultou na redução limitada de apenas uma unidade logarítmica em relação à concentração bacteriana inicial na coluna (e.g., $6\text{E}+07 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ para $7\text{E}+06 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ e $4\text{E}+04 \text{ UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ para $8\text{E}+03 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ das CS e CC, respectivamente). Isso destaca que uma parte significativa das bactérias não foi retirada com a biomassa, permanecendo na fração líquida após a centrifugação. Como as bactérias heterotróficas tendem a possuir um tamanho celular inferior às microalgas verdes, pode-se supor que elas tenham facilmente atravessado o rotor da bomba utilizada. Essas informações são pertinentes para potenciais aplicações de mercado deste bioproduto, bem como para as etapas de purificação porvindouras do *downstream process*.

Contudo, considerando que algumas das bactérias presentes no CS são provavelmente probióticas e produtoras de ácido láctico (LAB), sua presença no sobrenadante após a colheita pode aumentar a funcionalidade e o valor do bioproduto final (Rama *et al.*, 2019). Essas bactérias probióticas produzem EPS prebióticos, que não são apenas aditivos viscosificantes eficazes, mas também possuem uma gama de propriedades benéficas à saúde (e.g., atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e imunomoduladoras) (Angelin; Kavitha, 2020; Pourfajar *et al.*, 2023; Rama *et al.*, 2019.). Portanto, os EPS produzidos por LAB oferecem a oportunidade de desenvolver novos produtos alimentícios, melhorando sua textura, estabilidade e benefícios à saúde. Assim, o consórcio de microalgas e bactérias em SL tem o potencial de ajudar a atender parte da crescente demanda por alimentos naturais e saudáveis, ao mesmo tempo em que agrega valor ao SL dentro de um quadro de bioeconomia circular. Vale ressaltar que diferenciar a porção de EPS derivada de microalgas em comparação com bactérias permanece uma lacuna importante na pesquisa, conforme recentemente destacado por Zhou *et al.* (2024). Identificar a contribuição individual de cada microrganismo ampliará ainda mais o potencial tecnológico do consórcio.

4.5.1 Propriedades Reológicas das Soluções de EPS

Após a extração dos EPS das duas colunas (i.e., coluna-soro e coluna-controle), as soluções de EPS foram preparadas e avaliadas reologicamente conforme Tabela 24 e Figura 57.

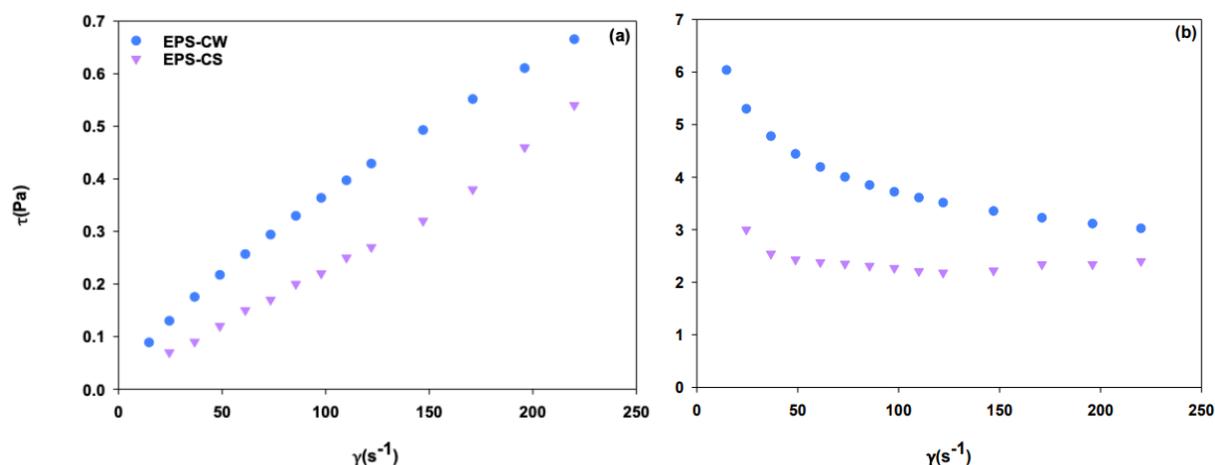
Tabela 24 – Propriedades reológicas de soluções dos EPS advindos da coluna-soro (CS) em comparação com as do EPS advindos da coluna-controle (CC) (0,8% m/v, 25°C, 25s-1)

Parâmetros	Soluções	
	Coluna-soro (CS)	Coluna-Controle (CC)
Viscosidade (mPa.s)	5,2	3,00
K (Pa.s ⁿ)	1,20E-02	3,30E-04
n	0,74	0,90
R ²	0,99	0,99

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Os resultados revelaram diferenças significativas entre os parâmetros. Em uma concentração de 0,8% e um valor de referência de 25 s⁻¹, o valor de K foi trinta e seis vezes maior para a solução de CS do que para a de CC, indicando maior pseudoplasticidade (n = 0,74) em comparação ao controle, que exibiu um comportamento de fluxo quase newtoniano (n = 0,9). Este achado é consistente com os resultados apresentados na Figura 56 e demonstra que, frente à utilização do resíduo, uma maior biossíntese de EPS logra realizar uma mudança reológica na solução. Este mesmo fenômeno não foi observado para as soluções de CC. Belachqer-El Attar *et al.* (2023) relataram anteriormente achados semelhantes, onde uma maior concentração de EPS nos sobrenadantes de seus respectivos efluentes levou a uma mudança pronunciada no comportamento reológico das soluções preparadas (ou seja, índices "n" mais baixos). Embora as viscosidades aparentes permanecessem na mesma ordem de magnitude para esta concentração, uma variação no comportamento reológico dos fluidos em termos de mudanças nos parâmetros K e n foi observada. No entanto, é imperativo realizar uma análise detalhada do espectro de taxa de cisalhamento, como mostrado na Figura 58, para obter uma compreensão mais ampla do perfil reológico necessário, dependendo da aplicação industrial deste aditivo modificador de reologia.

Figura 57 – Curvas de fluxo (a) e viscosidades aparentes (b) de soluções de EPS oriundo do soro de leite e controle a 0,8%



Fonte: Pessoa et al. (2024)

O modelo de Lei de potência mostrou um bom ajuste aos dados experimentais ($R^2 > 0,95$, Figura 57 (a)), apresentando perfis distintos para as soluções de CS e CC dentro do intervalo de análise (Figura 57 (a) e (b)).

De acordo com a Tabela 25, as soluções do grupo controle exibiram uma transição de comportamento Newtoniano para pseudoplástico apenas em concentrações acima de 0,8%; ao contrário do CS, que exibiu pseudoplasticidade em todo o espectro de concentração (de 0,4% a 1%). Isso destaca mais uma vantagem comercial em relação à utilização do consórcio microalgas-bactérias cultivadas com resíduos, isto é, mesmo em pequenas concentrações de EPS (i.e., <1%), logra-se alterar o comportamento reológico da solução.

Tabela 25 – Parâmetros do modelo de Power Law obtidos a partir do ajuste das soluções de EPS da coluna-controle e da coluna-soro. K (Pa.sn) n é um número adimensional, e C é a concentração de EPS (% m/v)

C (m/v%)	EPS controle (CC)			EPS soro (CS)		
	K	n	R2	K	n	R2
0.4	7,00E-05	1,61	0,99	2,90E-03	0,92	0,99
0.6	2,00E-04	1,43	0,98	5,00E-03	0,87	0,99
0.8	3,30E-04	0,92	0,98	1,20E-02	0,74	0,99
1	9,00E-03	0,88	0,99	5,40E-02	0,57	0,99

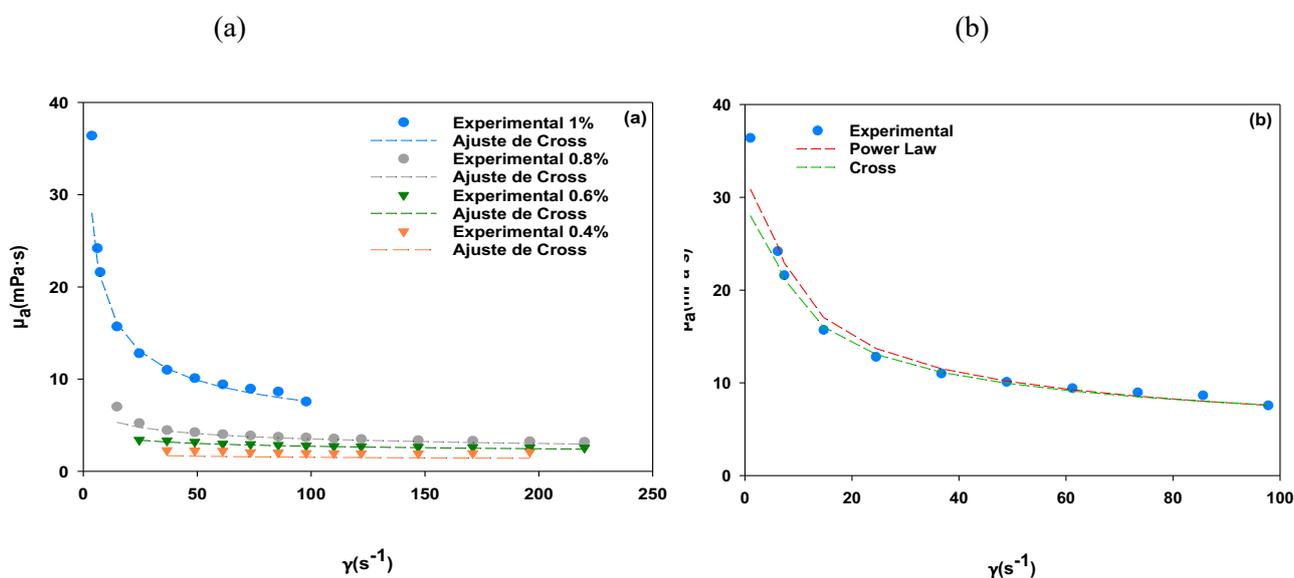
Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

As diferenças entre as soluções em termos do valor do parâmetro K também foram significativas em baixas concentrações, sendo o valor de 0,4% 42 vezes menor em comparação

ao controle. No entanto, à medida que a concentração aumentou, a diferença nos valores de K diminuiu, reduzindo-se por um fator de seis, considerando a concentração de 1%.

Um bom ajuste entre os dados experimentais e os modelos reológicos matemáticos é crucial para a previsão do comportamento reológico em escala industrial. Agora, para um outro modelo, a Figura 58 (a) ilustra como os dados experimentais se alinham ao modelo de Cross em várias concentrações, onde (b) apresenta uma comparação entre o modelo de Lei de Potência e o modelo de Cross para a concentração que melhor performou reologicamente neste trabalho, a de 1%. Exclusivamente nesta concentração, houve um incremento na viscosidade aparente em uma ordem de magnitude em relação à água.

Figura 58 – (a) Viscosidades aparentes com seus respectivos ajustes pelo modelo Cross para o CS-EPS de 0,4 a 1%; (b) comparação entre os modelos Power Law e Cross a 1%



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Salvo para a concentração de 0,4%, o modelo de Cross demonstrou um bom ajuste para os dados experimentais em todo o espectro de concentração (Figura 58 (a)). Isso pode ser atribuído ao fato de que, nesta concentração, a solução se aproximou de um comportamento mais Newtoniano, conforme indicado pelos índices de fluxo (n) dos modelos de Lei de Potência (0,92) e de Cross (0,9) indicados na Tabela 25 e 26.

Tabela 26 – Parâmetros do modelo Cross para a solução de 1% de EPS-CS, e erro RMSE entre os valores preditos e medidos para o ajuste do modelo Cross e Power Law

C (w/v %)	n_{cross}	n_{eq}	μ_0 (Pa. s)	μ_{∞} (Pa. s)	α (s ⁿ)	RMSE _{cr}	RMSE _{pl}
0,4	0,10	0,90	0,006	6,00E-06	1,5	0,52	0,07
0,6	0,14	0,86	0,03	3,00E-05	5,5	0,31	0,12
0,8	0,23	0,77	0,09	9,00E-05	8,3	0,44	0,42
1	0,43	0,57	0,8	8,00E-04	16,2	0,55	0,75

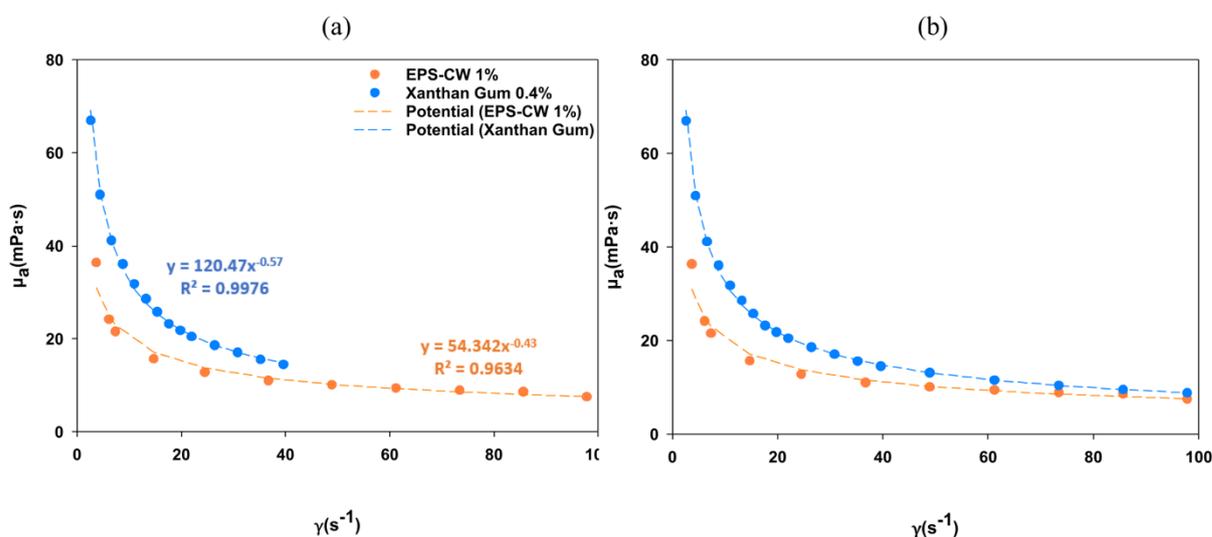
Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Além disso, os índices de comportamento de fluxo do modelo de Cross, conforme mostrado na Tabela 26, foram semelhantes aos valores previamente mostrados para a Lei de Potência, sem diferenças significativas. Todavia, o modelo de Cross provou ser superior na concentração de 1% em comparação com o modelo de Lei de Potência, particularmente na faixa de baixo cisalhamento (i.e., até 50 s⁻¹) (Figura 58b, Tabela 26). Isso está alinhado com achados anteriores na literatura e pode ser atribuído ao ajuste na estrutura do modelo de Cross através do parâmetro μ_0 (Barnes; Hutton; Walters, 1989). No entanto, o erro médio de desvio também aumentou no modelo de Cross à medida que a concentração de EPS diminuiu. Em outras palavras, o modelo de Lei de Potência superou o modelo de Cross para concentrações mais baixas (e.g., 0,4 e 0,6% m/v).

Apesar da não comparabilidade dos índices de consistência entre os dois modelos devido às suas unidades distintas, suas predições foram matematicamente e fisicamente coerentes. A concentração de EPS (0,4-1% m/v) aumentou juntamente com o índice de consistência (de 1,5 a 16,2 s² e 2,90E-03 a 5,4E-02). Como salientado acima, uma diferença significativa entre as concentrações só foi observada a partir de 1% m/v. Este fenômeno pode ser atribuído à existência de um ponto crítico em que ocorre um aumento significativo no entrelaçamento das cadeias poliméricas, haja vista que à medida que a concentração de EPS aumenta numa solução, as cadeias poliméricas começam a se entrelaçar devido à intensificação das interações de baixa energia (e.g., ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e forças de van der Waals) (Sun; Huang; Wu, 2014). Esse entrelaçamento cria uma rede tridimensional que aumenta a viscosidade da solução e pode levar à formação de um gel em concentrações muito altas. Assim, o comportamento reológico das soluções de EPS pode passar de líquido fino para uma solução mais viscosa e, eventualmente, para um gel, devido ao aumento das interações e entrelaçamentos entre as cadeias poliméricas (Meng *et al.*, 2023; Sun; Huang; Wu, 2014; Yang *et al.*, 2020).

Comparar as propriedades reológicas de um produto comercialmente estabelecido com as de um potencial modificador reológico derivado de EPS, obtido de forma circular a partir do sobrenadante, é crucial para avaliar sua viabilidade e competitividade no mercado. Esta comparação ajuda a determinar se a valorização do sobrenadante pode levar a produtos que são reologicamente e quimicamente semelhantes a um modificador de reologia que já está sendo usado em várias aplicações industriais. Assim, a concentração de 1% de EPS bruto exibiu valores reológicos semelhantes aos da goma xantana comercial (GXC) a 0,4%, conforme ilustrado na Figura 59 (a).

Figura 59 – Propriedades reológicas de soluções de 0,4% de GXC e 1% de EPS. (a) Comparação de GXG para taxa de cisalhamento em intervalos de (i.e., 2,64 a 39,6 s⁻¹) versus (i.e., 14,7 a 220 s⁻¹) para EPS-CS (coluna soro). (b) Comparação baseada na extrapolação para intervalos semelhantes de acordo com a equação derivada da Lei da Potência



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Devido aos variados intervalos de taxa de cisalhamento resultantes dos diferentes suportes utilizados no reômetro, os quais são baseados na viscosidade de cada fluido, a equação da Lei de Potência (Figura 59 (a)) pode ser aplicada para extrapolar os valores de viscosidade aparente da GXC. Isso permite uma comparação mais precisa entre os biopolímeros na mesma taxa de cisalhamento, conforme mostrado na Figura 59 (b). A extrapolação foi bem-sucedida, como evidenciado por um coeficiente de determinação superior a 0,95 para ambos os bioprodutos.

A uma taxa de cisalhamento de referência comumente usada de 25 s⁻¹, a viscosidade aparente da CXG é 19,5 mPa.s, enquanto a do EPS a 1% é 12,8 mPa.s, apenas 1,5 vezes menor

que a do biopolímero comercial. Além disso, conforme mostrado na Figura 59 (b), essa diferença diminui com o aumento das taxas de cisalhamento. Isso é significativo porque, em aplicações como fluidos de perfuração de poços de petróleo, onde a GXC é utilizada, uma menor viscosidade em altas taxas de fluxo reduz a perda de pressão. Portanto, o EPS surge como um potencial alternativo à goma xantana comercial, alinhando-se aos princípios da economia circular. Do ponto de vista econômico, a produção de EPS por microalgas já começou a ser demonstrada como economicamente viável, embora requira ser aprimorada dentro de uma abordagem de biorrefinaria e com resíduos, conforme salientou Koçer *et al.* (2021).

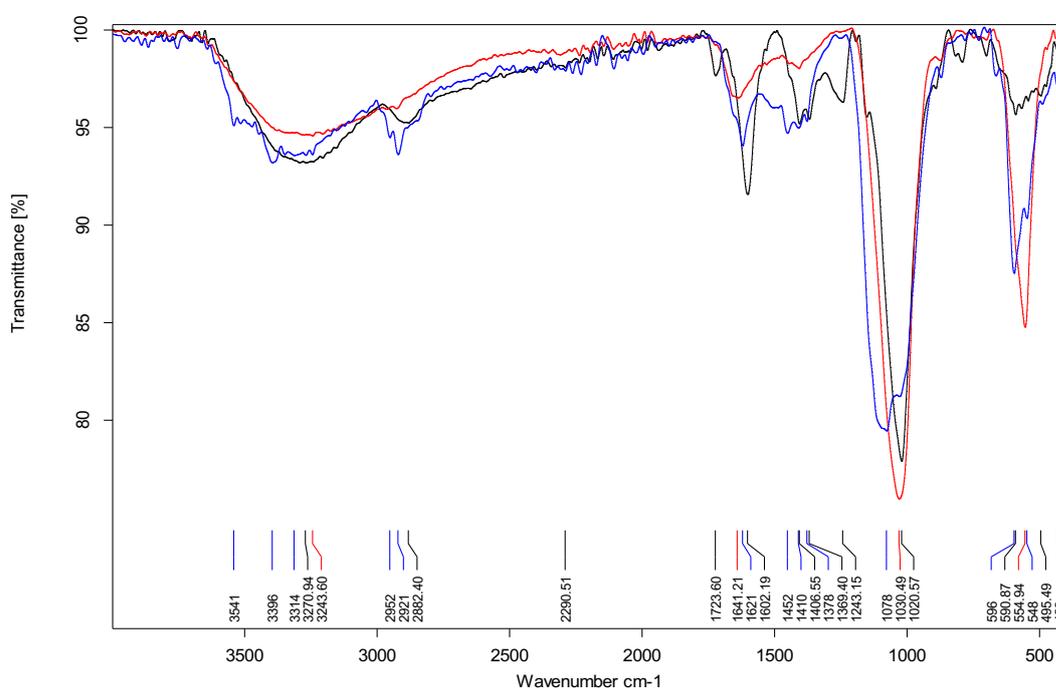
Culturas de consórcios microalgas-bactérias oferecem benefícios duplos: tratamento de águas residuais e produção de biomassa, com os sobrenadantes sendo aproveitados para a extração de EPS. Esta tecnologia não apenas produz EPS como um versátil modificador de reologia, mas também se integra a diversas aplicações industriais. No contexto da economia circular, surgem oportunidades para produzir novos produtos por meio da valorização de resíduos e efluentes. Empresas de laticínios, por exemplo, poderiam explorar a produção e aplicação de um modificador reológico em seus próprios processos e produtos, estabelecendo parcerias com diferentes indústrias para gerar fontes adicionais de receita.

Assim, análogo à discussão realizada na seção 4.3.3, a diferença na viscosidade aparente entre os dois biopolímeros estudados aqui pode ser explicada mediante três fatores: (i) diferença entre fontes microbianas, (ii) GXC sendo usada em forma purificada e (iii) GXC originária de cepas geneticamente aprimoradas. Consequentemente, o EPS de microalgas-bactérias deste trabalho, que não foi produzido usando microrganismos geneticamente modificados, tem uma viscosidade aparente mais baixa em comparação com a GXC, apesar das semelhanças em seus perfis reológicos. Assim, 1% de EPS bruto exibiu notavelmente propriedades reológicas semelhantes aos de 0,4% de GXC. Essa semelhança pode ser parcialmente atribuída à presença de grupos funcionais típicos, que podem ser identificados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), bem como na ressonância magnética nuclear (RMN).

4.5.2 Caracterização Estrutural dos EPS Produzidos

Análises espectroscópicas de FTIR e RMN foram realizadas para elucidar a estrutura dos EPS. Esta abordagem não invasiva permite identificar diversos grupos funcionais e compostos, demonstrando sensibilidade na revelação da estrutura complexa de polissacarídeos tanto vegetais quanto microalgais (Cardoso *et al.*, 2023). Os espectros de FTIR apresentaram várias bandas diagnósticas, conforme ilustrado na Figura 60.

Figura 60 – Espectros FTIR de EPS-CS (linha azul); EPS-CC (linha vermelha) e GXC (linha preta)



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

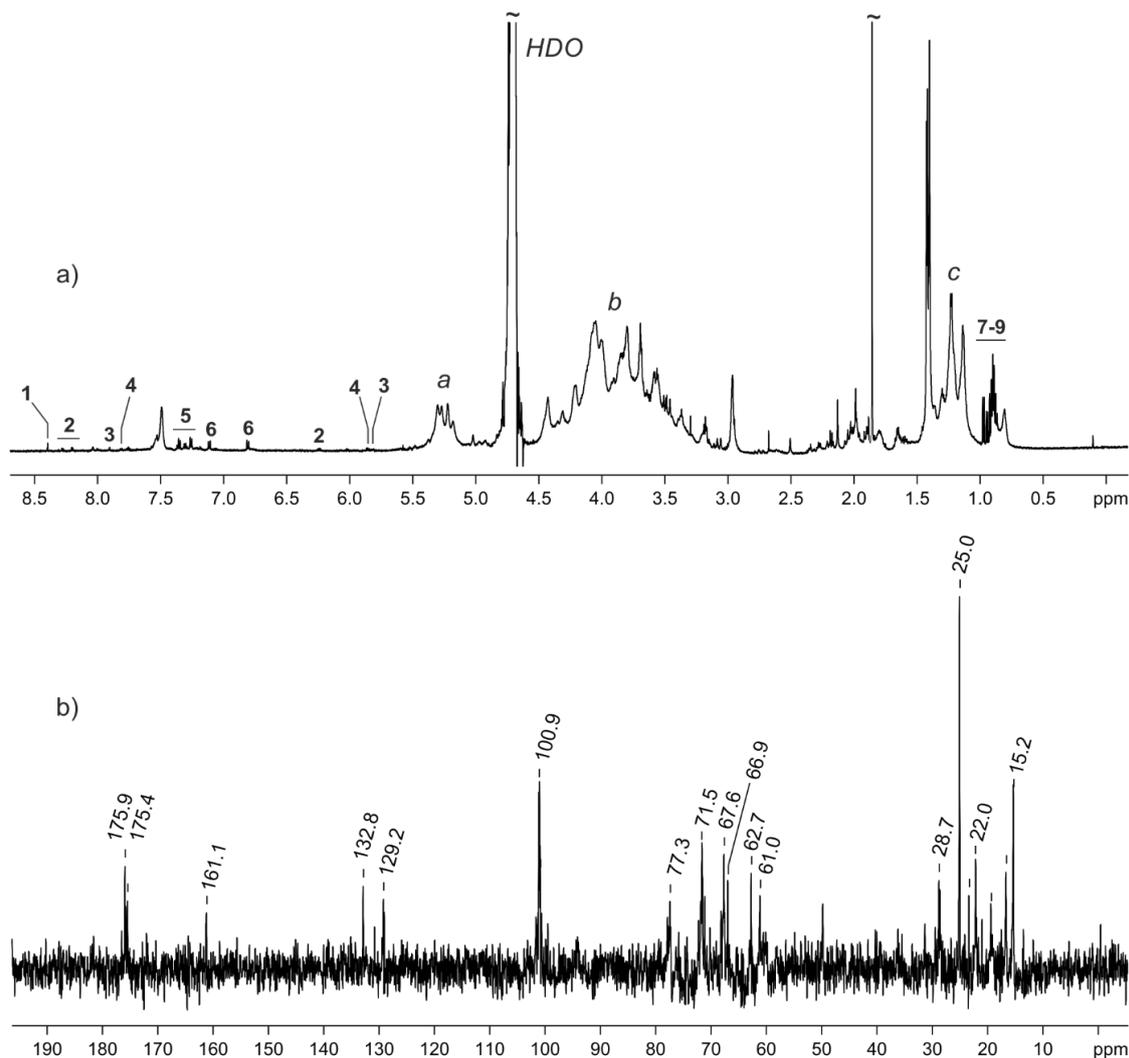
Primeiramente, foi observado uma ampla banda de absorção entre 3200 e 3500 cm^{-1} , indicando a presença de vibrações de estiramento O-H. A banda entre 2952 e 2882 cm^{-1} , presente apenas nas amostras EPS-CS (linha azul) e GXC (linha preta), foi atribuída às vibrações de estiramento Csp³-H. Os picos entre 1723 e 1602 cm^{-1} foram atribuídos às bandas de estiramento C=O, provavelmente devido à presença de grupos ácidos carboxílicos nos polissacarídeos, em concordância com os resultados de ¹³C NMR (ver Figura 61). Na região de absorção abaixo de 1500 cm^{-1} , o pico de absorção entre 1452 e 1369 cm^{-1} , presente apenas nas amostras EPS-CS (linha azul) e CXG (linha preta), foi causado pelas vibrações de estiramento do grupo C-H. Os picos mais altos na banda de absorção nos espectros de todas as

três amostras foram observados na faixa de 1078-1021 cm^{-1} , atribuídos às vibrações de estiramento C-O-C (ligação glicosídica), C-O-H e C-O. Estas bandas são características de polissacarídeos e foram previamente descritas por Castro, Donati e Vera (2023); Kazachenko *et al.* (2021) e Silva *et al.* (2020). Um sinal de intensidade média observado em 595 cm^{-1} na amostra EPS-CS (linha azul) foi atribuído a deformações C-H dos carboidratos internos que constituem o sistema polissacarídico. No entanto, diferenças na composição química, tipo de ligação glicosídica e grau de ramificação dos polissacarídeos também afetam as estruturas secundárias e terciárias da montagem macromolecular, dificultando a determinação exata de seus números e localizações nos espectros de FTIR. Duas conclusões importantes podem ser extraídas destes resultados: (i) os EPS de CS e CC apresentam grupos funcionais típicos do CXG, e (ii) estes EPS são heteropolímeros provavelmente compostos por carboidratos, proteínas, sulfato e grupos fosfato.

Em seguida, o grau de correspondência entre os espectros de FTIR dos EPS do sobrenadante de controle (EPS-CC) e do substrato residual (EPS-CS) com a amostra de goma xantana (CXG) foi investigado antes e após a liofilização utilizando o software OPUS (ver apêndice). O intuito foi para investigar possíveis diferenças substanciais no pico do grupo hidroxila -OH. Um nível de correspondência de 82,7% foi encontrado entre EPS-CS e CXG, enquanto o EPS-CC exibiu apenas 67,3% de sobreposição. Isso indica que a utilização do resíduo produz um produto que se assemelha mais aos atributos de um polissacarídeo com grupos funcionais semelhantes à goma xantana. Por outro lado, com relação às amostras não liofilizadas, houve um nível ligeiramente menor de sobreposição, 74,7% para EPS-CS e 65,8% para EPS-CC, provavelmente devido à eliminação de bandas específicas para ligações de hidrogênio na região 3600-2900 cm^{-1} . A liofilização é uma operação unitária intensiva em energia. Curiosamente, os dados sugerem que não há diferença substancial entre EPS liofilizados e os secos em estufa. Esta descoberta pode orientar futuras pesquisas, particularmente no que diz respeito à análise do ciclo de vida, bem como aos estudos de modelagem técnico-econômica.

No que concerne à espectroscopia de NMR, a Figura 61 mostra os espectros de ^1H e ^{13}C NMR do EPS-CS. Em geral, o ^1H NMR é usado para analisar a configuração da ligação glicosídica dos polissacarídeos. A zona anomérica (δH 4.5–5.5 ppm), na qual sinais dos prótons anoméricos de cada resíduo de açúcar são frequentemente detectados, a região dos prótons do anel alifático (δH 3.1–4.5 ppm); e a região dos grupos alquila, que se localiza entre (δH 1.2 e 2.3 ppm), constituem o espectro de ^1H NMR dos polissacarídeos.

Figura 61 – Análise de RMN do EPS-CW: a) Espectro de ^1H RMN a 600 MHz (D_2O) incluindo as atribuições de pequenas moléculas como 1 (formiato), 2 (adenosina), 3 (guanosina), 4 (uridina), 5 (fenilalanina), 6 (tirosina), 7 (valina), 8 (isoleucina), 9 (leucina), a (prótons anoméricos), b (prótons de pentoses e hexoses) e c (prótons metílicos); b) Espectro de ^{13}C RMN a 150,9 MHz (D_2O) incluindo o pico principal dos sinais



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Na região anomérica, quatro sinais principais encontrados em δH 5.18, 5.22, 5.27 e 5.30 ppm são característicos de ligações α -glicosídicas (Bounaix *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2022). A ausência de sinais na região de δH 4.4 a 4.8 ppm confirmou a ausência ou proporção muito baixa de carboidratos em configuração β na montagem polissacarídica. O espectro de ^{13}C NMR do EPS-CS incluiu carbonos anoméricos em ca. δC 100 ppm, e carbonos de anel na região δC 77.3 – 61.0. Além disso, sinais em δC 25 e 175 ppm foram detectados, característicos de grupos metílicos e carboxílicos, enquanto picos em δC 61,0, 62,7, 66,9, 67,6, 71,5 e 77,3 ppm representaram carbonos metinos de anel de unidades de pentose e hexose. Da mesma forma, a ausência de deslocamento químico acima de δC 102 ppm indicou uma configuração α para as

unidades de carboidratos. Estes dados concordam com resultados anteriores relatados para EPS, como os de Ali *et al.* (2020); Derdak *et al.* (2022) e Larsen e Engelsen (2015). O sinal em δC 161.1 ppm é atribuído ao carbono ligado a dois ou três átomos de nitrogênio, indicando a presença de bases purínicas e pirimidínicas, ou seja, ácidos nucleicos (Mao *et al.*, 2007). Os espectros de 1H NMR obtidos revelaram a presença de ácidos nucleicos, sendo identificados adenosina (2), guanosina (3) e uridina (4). Juntamente com esses compostos, foram identificados vários aminoácidos: fenilalanina (5), tirosina (6), valina (7), isoleucina (8) e leucina (9). Portanto, comprova-se a natureza polissacarídica predominante dos EPS-CS, que exibiram uma estrutura complexa, provavelmente devido à sua produção pelo consórcio microbiano no sobrenadante, abrangendo não apenas polissacarídeos, mas também várias formas de ácidos nucleicos e proteínas. De fato, como observado por Jesus *et al.* (2019) para EPS de cianobactérias, a presença de ácidos urônicos, piruvatos e grupos acila de carboidratos ou grupos carboxílicos de aminoácidos na fração proteica são os principais contribuintes para a carga negativa geral dos EPS. Esta característica é de significativa importância biotecnológica, indicando considerável potencial tecnológico e de mercado.

O uso de RMN de difusão para caracterização de polímeros, especificamente para determinar a massa molecular média (Mw) tem sido utilizado na literatura em decorrência da praticidade e robustez (Arrabal-Campos; Oña-Burgos; Fernández, 2016; Viamonte-Aristizábal *et al.*, 2021). A Tabela 27 apresenta os valores estimados de coeficiente de difusão, raios hidrodinâmicos e Mw derivados das medições de RMN de difusão feitas na amostra de EPS-CS. Monitorando a atenuação do sinal dos sinais de 1H NMR, identificou-se três principais distribuições de massa molecular centradas em 208, 284 e 324 kDa.

Tabela 27 – Coeficientes de difusão TRAIIn (D), raio hidrodinâmico (rH) e peso molecular médio ponderal (Mw), a 295 K em D2O

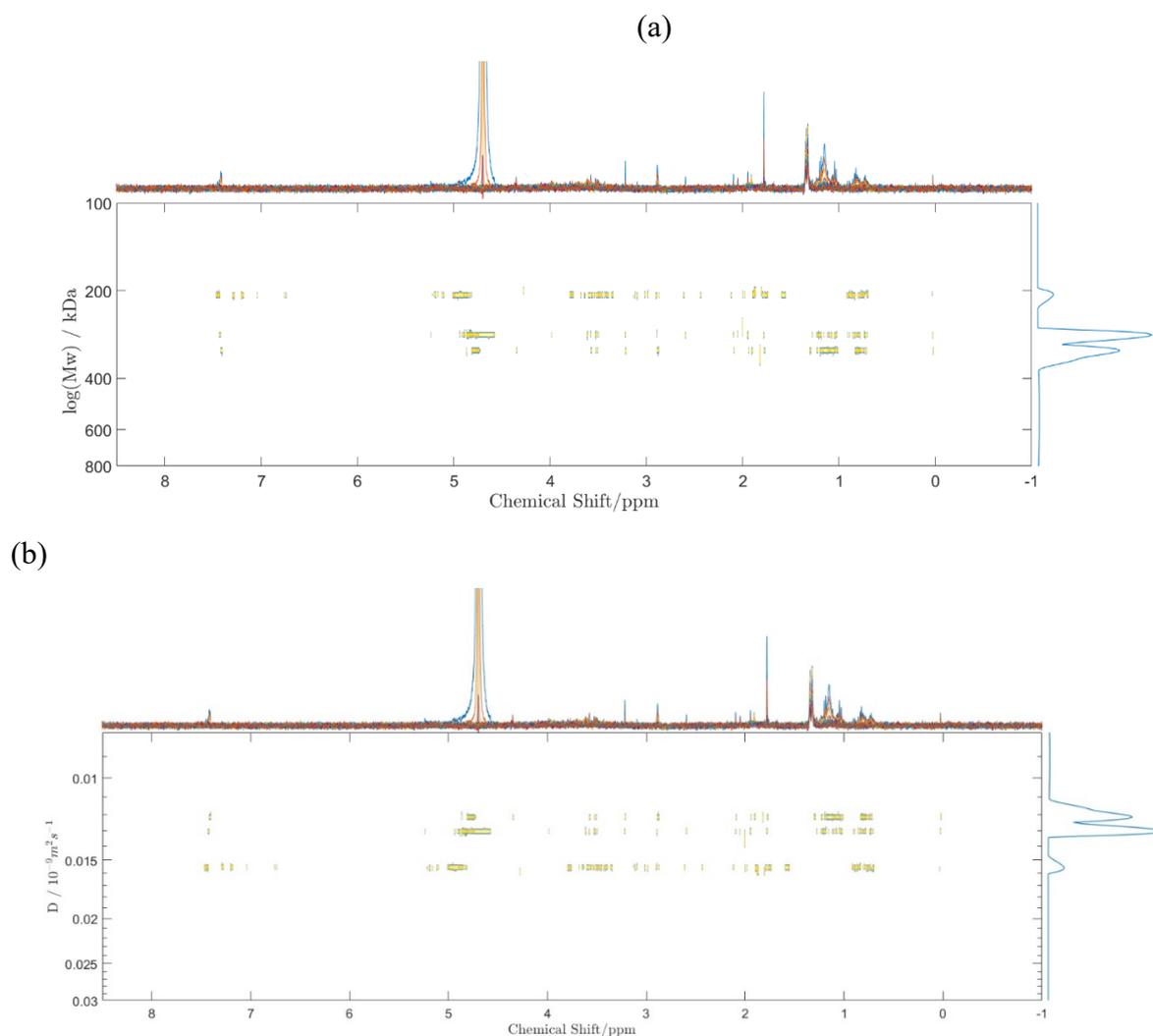
D ($10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) ^a	r_H (Å) ^b	Mw (Da) ^c	Fração molar ^d (%)
0,01626	135 ± 25	208350 ± 10873	7,3%
0,01363	161 ± 34	284180 ± 18518	43,3%
0,01263	174 ± 42	324790 ± 27573	49,4%

^a O erro experimental nos valores de D é de $\pm 2\%$. ^b A viscosidade η usada na equação de Stokes-Einstein foi retirada do Perry's Chemical Engineers' Handbook 8ª Edição (www.knovel.com) e é de $0.98086 \text{ 10}^{-3} \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$. ^c Determinado por difusão de RMN 1H PGSE usando padrões de poliestireno e sem o uso de qualquer fator de correção (Arrabal-Campos; Oña-Burgos; Fernández, 2016). ^d Determinada pela fatoração matricial bilinear, a partir dos dados de DOSY.

Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Para determinar a fração molar das várias distribuições de Mw, foi realizada espectroscopia de ordenação de difusão (DOSY). Utilizando uma técnica de fatoração matricial bilinear nos dados de DOSY, foi possível identificar os principais componentes de difusão. Esta abordagem fornece coeficientes de difusão em um formato pseudo bidimensional, útil para analisar misturas complexas e entender o estado oligomérico de biomoléculas (Groves, 2017). Os três componentes determinados no espectro de DOSY foram identificados pela análise da matriz bilinear de coeficientes de difusão, utilizando fatoração de matriz não negativa com mínimos quadrados alternados e restrição de não negatividade (Kim; Park, 2008; Snyder *et al.*, 2008). A análise revelou três conjuntos principais de sinais no espectro de DOSY, apresentados na Figura 62, à direita do eixo y.

Figura 62 – 1H DOSY (500 MHz, espectroscopia ordenada por difusão) e b) 1H MOSY (espectroscopia ordenada por massa molecular) para uma amostra de EPS medida a 500 MHz em D2O a 294 K

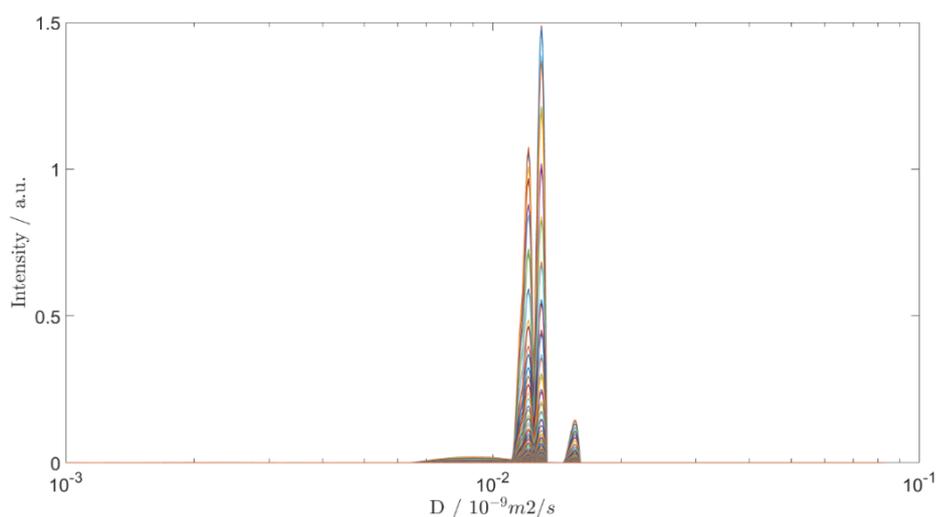


Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

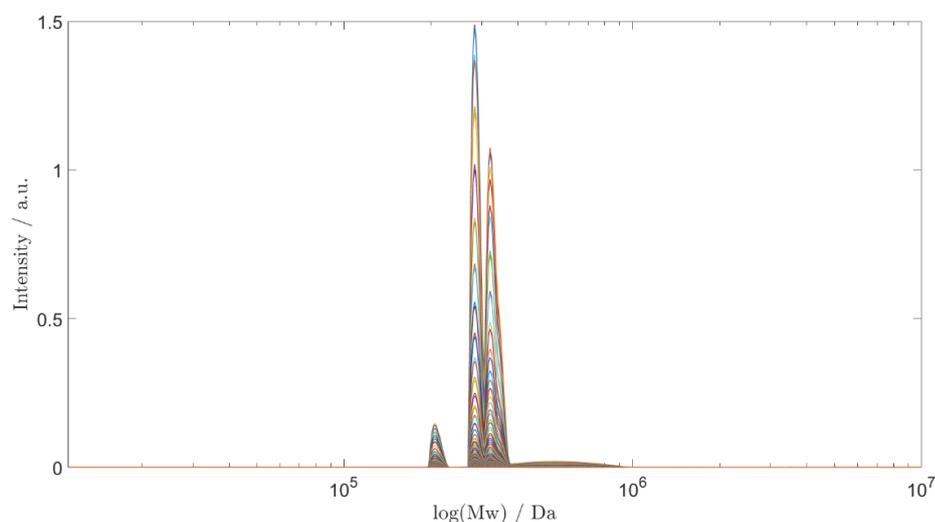
Curiosamente, os três conjuntos de sinais possuem sinais na região anomérica (logo abaixo ou acima do sinal de água em 4,7 ppm), apontando para a natureza polissacarídica dessas espécies. A projeção F1 do mapa bidimensional resultou nas frações molares para as diferentes distribuições de Mw, que também estão detalhadas na Tabela 25 como fração em porcentagem. A Figura 63 exibe a projeção F1 em ambos os mapas, onde três picos principais são observados com resolução suficiente para distinguir seus valores médios de difusão e pesos moleculares médios. A correlação entre valores de D e Mw estimado é alcançável devido às calibrações prévias de $\log(D\eta)$ versus $\log(Mw)$, conforme descrito anteriormente (e.g., Arrabal-Campos; Oña-Burgos; Fernández, 2016).

Figura 63 – (a) Projeção F1 do mapa DOSY e (b) sua conversão para massa molecular média ponderada

(a)



(b)



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Devido à sua praticidade, a técnica de RMN de difusão para determinação de massa molecular pode impulsionar a pesquisa em biopolímeros de microalgas e apoiar a padronização comercial de EPS. Além de reduzir custos por ser rápida, não destrutiva e livre de solventes, essa técnica pode auxiliar na escolha adequada dos poros das membranas de ultrafiltração no processo *downstream*, conforme o tamanho do biopolímero produzido. Por exemplo, escolhendo uma membrana cerâmica de tamanho de poro inferior ao tamanho dos EPS, em um equipamento piloto de ultrafiltração, pode-se concentrar os EPS ao mesmo tempo em que se realiza a sua purificação. Este tópico para trabalhos futuros permitirá a melhoria significativa das propriedades reológicas e das aplicações comerciais dos biopolímeros, concentrando-os e purificando-os de forma potencialmente eficiente.

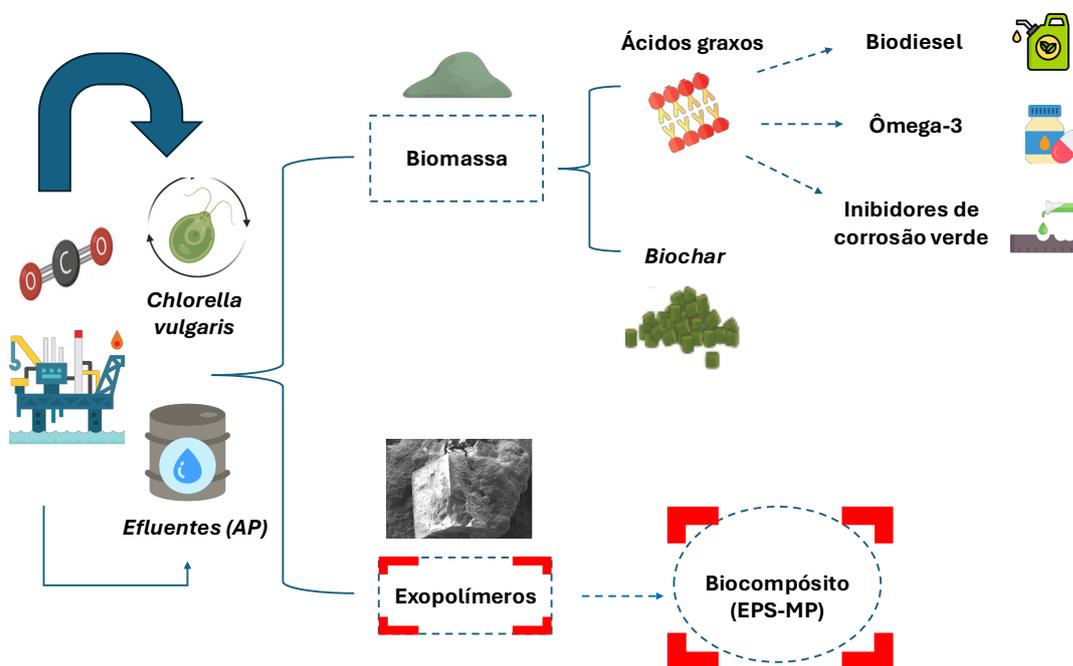
4.5.3 Biorrefinaria e benefícios ambientais

Nesta tese, foi proposto um modelo de biorrefinaria circular, demonstrando o potencial de obter, a partir de efluentes industriais, uma biomassa capaz de ser convertida em inúmeros produtos de valor comercial (e.g., biodiesel, *biochar*, ômega-3 e inibidores de corrosão). Ao cultivar a *Chlorella vulgaris* em águas residuais (AP e manipueira), observou-se que o percentual de ômega-3, contrariamente ao percentual nulo do cultivo controle, foi relevante (em média 20%), configurando-se como um potente nutracêutico vegano. Analogamente, os ácidos graxos (i.e., C18:3, C18:2, e C16:0), típicos para os emergentes inibidores de corrosão verde, foram igualmente incrementados.

Embora o biodiesel ainda não seja uma realidade factível mercadologicamente e geopoliticamente, ele apresentou conformidade com as normas nacionais e parcialmente com as internacionais. De acordo com o estudo recente de Panahi *et al.* (2024), a nanotecnologia pode desempenhar um papel chave na biotecnologia de microalgas nos próximos anos, alterando essa perspectiva por meio de várias soluções (nanocatálise, retroespelhamento de luz para o cultivo, aumento da síntese de lipídios etc.).

Entretanto, a particularidade da combinação de estresses microalgais decorrente do par microalgas-efluente culminou em um bioproduto de amplas aplicações tecnológicas potenciais, que começa a ganhar espaço na literatura de microalgas: os EPS. Por essa razão, este foi o maior foco deste trabalho, que revelou o ineditismo e o potencial de um biocompósito (EPS-MP/NP) e suas eventuais aplicações na própria indústria do petróleo, dentro de uma abordagem circular. A Figura 64 ilustra e sintetiza essa biorrefinaria.

Figura 64 – Modelo de biorrefinaria de *Chlorella vulgaris* em efluentes industriais e as suas potencialidades encontradas nesta tese



Fonte: Elaborada pelo autor (2024)

Não obstante os potenciais elencados e estudados nesta tese, algumas limitações para a materialização desta biorrefinaria ainda são evidentes e não foram abordadas neste projeto. Por um lado, a água remanescente dos cultivos deve ser caracterizada e testada como água de reuso ou até mesmo destinada à irrigação, desde que atenda aos parâmetros estabelecidos pela resolução CONAMA 430. Por outro, a extração dos lipídios foi realizada com solventes tóxicos, principalmente o clorofórmio. Como alternativa, a pesquisa com líquidos iônicos tem avançado, e a inserção deles na perspectiva de biorrefinaria circular tende a ser mais evidente nos próximos anos.

Ademais, o biochar pode ser testado como substituto do carvão ativado convencional, trazendo ainda mais uma perspectiva circular. O avanço da regulação do mercado de carbono no Brasil, assim como o progresso desse debate no contexto das microalgas, será bem-vindo, pois trará ainda mais competitividade por meio dos créditos de carbono dessas biorrefinarias.

Por fim, as abordagens multiômicas, como genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica, têm se mostrado recentemente ferramentas poderosas para aumentar a produção de polissacarídeos (Li *et al.*, 2023) e outros metabólitos cruciais no contexto de biorrefinarias microbianas (Jacob *et al.*, 2024). A aplicação dessas técnicas, ainda emergentes no contexto

dos EPS de microalgas, pode fornecer uma compreensão abrangente dos mecanismos biológicos subjacentes à produção de EPS. A genômica e a transcriptômica identificam genes e elementos que influenciam a expressão gênica (Mishra *et al.*, 2019), enquanto a proteômica e a metabolômica revelam proteínas e metabólitos fundamentais envolvidos na síntese e secreção de EPS (Li *et al.*, 2023; Singh *et al.*, 2020). Essas informações podem ser utilizadas para otimizar as condições de cultivo e desenvolver estratégias de engenharia metabólica. Quando integradas com a bioinformática, essas abordagens podem aumentar significativamente a produção de EPS, aprimorando assim o papel das microalgas no paradigma emergente da economia circular (Pessoa *et al.*, 2024).

5 CONCLUSÃO

Esta tese explorou um modelo inovador de bioeconomia circular por meio da biorrefinaria de *Chlorella vulgaris* para a valoração da água produzida (AP), da manipueira (MP) e do soro de leite (SL). Demonstrou-se o potencial de síntese de bioprodutos de alto valor agregado, tanto intra quanto extracelularmente. Argumentou-se que esse novo paradigma produtivo pode ser integrado à Nova Indústria Brasil, aproveitando o singular potencial do país, além de alinhar-se ao debate global sobre economia circular, com o Brasil iniciando essa agenda por meio da Política Nacional de Economia Circular.

A revisão do estado da arte e da técnica permitiu concluir essencialmente dois aspectos: (i) a biorrefinaria de microalgas associada ao tratamento de efluentes (BBMTE) é uma área tecnológica em ascensão global, liderada pela China e Coreia do Sul desde 2011, impulsionando uma corrida mundial de inovação; (ii) a maioria dos estudos e patentes tem focado predominantemente na biorremediação, deixando uma lacuna na exploração integral da biorrefinaria e dos potenciais tecnológicos dos bioprodutos intra e extracelulares.

Com o intuito de preencher essa lacuna, o pré-tratamento da AP associado à suplementação com MP obteve a maior produtividade de biomassa entre as amostras, além de uma produção significativa de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) com propriedades reológicas semelhantes à goma xantana comercial (GXC). Embora a presença de nanopartículas tenha sido inconclusiva, identificou-se a produção inovadora de um biocompósito (EPS-micropartículas). Essas características podem potencialmente credenciar o EPS de microalgas como um aditivo viscosificante com aplicabilidade industrial, especialmente na indústria do petróleo, que busca inovações sustentáveis em suas cadeias de produção.

Por um lado, o aproveitamento da AP como meio de cultura para os microrganismos pode mitigar os impactos ambientais oriundos do descarte deste efluente; por outro, permite a captura de carbono, produção de biomassa, biochar e um biocompósito com a matriz polimérica. No processo de extração de petróleo, esse biocompósito EPS-partículas pode, em solução, interagir com os poros do reservatório de tamanho micro e nano, potencialmente aumentando a produtividade dessas empresas. Estudos futuros devem focar na análise de ciclo de vida e avaliação técnico-econômica para quantificar essa integração, bem como mimetizar, em laboratório, os fluidos de perfuração com a adição do EPS.

Conclui-se que a mistura de efluentes, embora tenha produzido biodiesel de terceira geração em conformidade com as normas nacionais e internacionais, resultou em uma biomassa com baixos percentuais de lipídios. A AP tratada e sem suplementação apresentou o melhor

percentual de lipídios; contudo, há um debate em curso, ainda insolúvel, sobre a viabilidade econômica desse combustível. É necessário o avanço de mais pesquisas, especialmente relacionadas à transesterificação direta úmida, para esclarecer essa questão.

Pelo melhor do nosso conhecimento, não há registros na literatura de trabalhos de otimização utilizando a matriz de Doehlert com os efluentes estudados nesta tese. Foram gerados modelos preditivos e robustos para a maximização da biomassa e EPS, com valores significativos de produção deste biopolímero, demonstrando que a estratégia de mistura de efluentes favorece significativamente a produção dos mesmos. Esta abordagem pode ser replicada para efluentes semelhantes à MP em pesquisas futuras.

Concluiu-se que a natureza dos efeitos que influenciaram a produção de biomassa divergiu daqueles que afetaram a produção de EPS. No entanto, uma análise de desejabilidade global com 89% de acurácia proporcionou um equilíbrio satisfatório entre a produção máxima de EPS e biomassa, alcançando valores inéditos para a *Chlorella vulgaris*.

No último bloco desta tese, concluiu-se que o consórcio de microalgas-bactérias em escala piloto produziu a maior concentração de EPS em relação ao controle, com características químicas e reológicas semelhantes à goma xantana comercial (GXC). Este resultado sugere que o modelo biocircular pode ser aplicado também na indústria de alimentos utilizando o soro de leite. Diferentes combinações de consórcios, incluindo mais de um tipo de microalga, representam uma lacuna interessante para investigações futuras. A técnica de difusão por ressonância magnética nuclear (RMN) foi aplicada pela primeira vez em estudos de EPS de microalgas nesta tese, mostrando-se um diferencial promissor para o avanço da biotecnologia de microalgas. Juntamente com a ultrafiltração, essa técnica pode ajudar no controle de qualidade dos EPS produzidos e a impulsionar a comercialização desses biopolímeros.

O Brasil, com sua vocação para os hidratos de carbono em detrimento dos hidrocarbonetos, reúne inúmeras vantagens comparativas na área de biorrefinarias e biotecnologia de microalgas. Dentro deste novo contexto paradigmático global, o país tem o potencial de se tornar um grande ator ambiental, desenvolvendo soluções verdes e dando um grande salto tecnológico. Isso possibilitaria ao Brasil transcender sua condição de país predominantemente primário-exportador, transformando-se em uma potência ambiental-tecnológica de baixo carbono no século XXI.

REFEFÊNCIAS

- ABBAS, A.; ZHANG, L.; KHAN, S. U. A literature review on the state-of-the-art in patent analysis. **World Patent Information**, v. 37, p. 3-13, jun. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2013.12.006>. Acesso em: 5 jul. 2024.
- ABDELFATTAH, A. *et al.* Microalgae-based wastewater treatment: Mechanisms, challenges, recent advances, and future prospects. **Environmental Science and Ecotechnology**, v. 13, p. 100205, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.es.2022.100205>. Acesso em: 6 jul. 2024.
- ABDUL HAKIM, M. **A potential application of microalgae in produced water treatment**. 2016. 106 f. Theis (Master Science in Environmental Science) Qatar University College of Art and Sciences, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10576/5087>. Acesso em: 5 jul. 2024.
- ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 16290**. Sistemas espaciais — Definição dos níveis de maturidade da tecnologia (TRL) e de seus critérios de avaliação. Rio de Janeiro, ABNT, 2012
- ANGELIN, J.; KAVITHA, M. Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 853-865, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190>. Acesso em: 22 out. 2023.
- ANP – AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (Brasil). **Especificações nacionais do biodiesel B100**. Rio de Janeiro: ANP, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/analise-de-impacto-regulatorio-air/arquivos/1607120-especificacoes-nacionais-do-biodiesel-b100.pdf>. Acesso em: 10 out. 2023.
- ANP – AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (Brasil). **Resolução ANP nº 7 de 19 de março de 2008**. Rio de Janeiro: ANP, 2008. Disponível em: <https://atosoficiais.com.br/anp/resolucao-n-7-2008-> Acesso em: 10 out. 2023.
- AGISTA, M.; GUO, K; YU, Z. A state-of-the-art review of nanoparticles application in petroleum with a focus on enhanced oil recovery. **Applied Sciences**, v. 8, n. 6, p. 871, 25 maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/app8060871>. Acesso em: 6 ago. 2024.
- AGWA, O. K. *et al.* Cultivation of microalgae using Cassava wastes as a growth media. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 5, n. 2, p. 8-19, 2014.
- AL-GHOUTI, M. A. *et al.* Produced water characteristics, treatment and reuse: a review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 28, p. 222-239, abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.02.001>. Acesso em: 5 jul. 2024.

- ALI, P. *et al.* A glacier bacterium produces high yield of cryoprotective exopolysaccharide. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03096>. Acesso em: 29 jul. 2024.
- ALKALBANI, A.K.; CHALA, G. T.; ALKALBANI, A.M. Experimental investigation of the rheological properties of water base mud with silica nanoparticles for deep well application. **Ain Shams Engineering Journal**, v. 14, n. 10p. 102147, out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.asej.2023.102147>. Acesso em: 6 jul. 2024.
- ALMEIDA LIMA, U. (org.). **Biotecnologia industrial: processos fermentados e enzimáticos**. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2019. v. 3. 790 p.
- ALMEIDA, R. P. ; SILVA, T. L. S. **Soro do leite, descarte e reaproveitamento**. 2023. 28. f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Tecnologia em Laticínios) – Instituto Federal de Alagoas, Satuba, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ifal.edu.br/handle/123456789/344>. Acesso em: 23 jul. 2024.
- ALSABA, M. T.; AL DUSHAISHI, M.F.; ABBAS, A. K. A comprehensive review of nanoparticles applications in the oil and gas industry. **Journal of Petroleum Exploration and Production Technology**, v. 10, n. 4, p. 1389-1399, jan. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13202-019-00825-z>. Acesso em: 6 ago. 2024.
- ALSARAYREH, M. *et al.* Biological-based produced water treatment using microalgae: challenges and efficiency. **Sustainability**, v. 14, n. 1, p. 499, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su14010499>. Acesso em: 5 jul. 2024.
- ALTAMMAR, K. A. A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>. Acesso em: 6 jul. 2024.
- AMADO, I. R. *et al.* Cheese whey: A cost-effective alternative for hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus*. **Food Chemistry**, v. 198, p. 54-61, maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.062>. Acesso em: 3 ago. 2024.
- AMAKIRI, K. T. *et al.* Review of oilfield produced water treatment technologies. **Chemosphere**, v. 298, p. 134064, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134064>. Acesso em: 5 jul. 2024.
- AMMAR, S. H.; KHADIM, H. J.; MOHAMED, A. I. Cultivation of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* microalgae in produced water for bioremediation and biomass production. **Environmental Technology & Innovation**, v. 10, p. 132-142, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.02.002>. Acesso em: 5 jul. 2024.
- AMORIM, M. C. C. *et al.* Caracterização e avaliação paramétrica da manipueira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA., COBEQ, 21,2016, Fortaleza. **Anais eletrônicos** [...]. São Paulo: ABEQ, 2016. Disponível em: https://proceedings.science/proceedings/44/_papers/40186?lang=pt-br. Acesso em: 5 jul 2024.
- ANDRADE, B. B. *et al.* Production and characterization of *Spirulina* sp. LEB 18 cultured in reused Zarrouk's medium in a raceway-type bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 284, p.

340-348, jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.144>. Acesso em: 5 jul. 2024.

ANDRADE, I. H. P. *et al.* Innovation waves: analysis and modeling of patents on ultrasound applications in food processing. **Journal of Food Process Engineering**, v. 47, n. 6, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfpe.14647>. Acesso em: 6 jul. 2024.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC**. 13th. ed. Washington, DC: AOAC, 1980.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Horwitz, W., Maryland: Gaithersburg, 1997.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20th. ed. Washington, DC: APHA, 1998.

ARAÚJO, E.; FEIJÓ, C. **Industrialização e desindustrialização no Brasil: teorias, evidências e implicações de política**. Curitiba: Appris, 2024.

ARAÚJO, G. S. *et al.* Nutrient removal by *Arthrospira platensis* cyanobacteria in cassava processing wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101826, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101826>. Acesso em: 5 jul. 2024.

ARAYA, B. *et al.* Evaluation of the simultaneous production of lutein and lipids using a vertical alveolar panel bioreactor for three *Chlorella* species. **Algal Research**, v. 6, p. 218-222, out. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.06.003>. Acesso em: 5 jul. 2024.

ARIF, M. *et al.* A complete characterization of microalgal biomass through FTIR/TGA/CHNS analysis: an approach for biofuel generation and nutrients removal. **Renewable Energy**, v. 163, p. 1973-1982, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.10.066>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ARRABAL-CAMPOS, F. M.; AGUILERA-SÁEZ, L. M.; FERNÁNDEZ, I. Algebraic reconstruction technique for diffusion nmr experiments. application to the molecular weight prediction of polymers. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 123, n. 4, p. 943-950, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.8b08584>. Acesso em: 18 jul. 2024.

ARRABAL-CAMPOS, F. M.; OÑA-BURGOS, P.; FERNÁNDEZ, I. Molecular weight prediction with no dependence on solvent viscosity. A quantitative pulse field gradient diffusion NMR approach. **Polymer Chemistry**, v. 7, n. 26, p. 4326-4329, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c6py00691d>. Acesso em: 24 jul. 2024.

ARRIADA, A. A.; ABREU, P. C. Nannochloropsis oculata growth in produced water: an alternative for massive microalgae biomass production. **Brazilian Journal of Petroleum and Gas**, v. 8, n. 3, p. 119-125, out. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5419/bjpg2014-0011>. Acesso em: 21 jul. 2024.

ARUNAKUMARA, K. K. I. U.; ZHANG, Xuecheng. Heavy metal bioaccumulation and toxicity with special reference to microalgae. **Journal of Ocean University of China**, v. 7, n.

1, p. 60-64, fev. 2008a. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11802-008-0060-y>. Acesso em: 21 jul. 2024.

ASHOKKUMAR, V. *et al.* Cultivation of microalgae *Chlorella* sp. in municipal sewage for biofuel production and utilization of biochar derived from residue for the conversion of hematite iron ore (Fe_2O_3) to iron (Fe) – Integrated algal biorefinery. **Energy**, v. 189, p. 116128, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116128>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ASSIS NETO, D. Q. *et al.* Potencial biorremediador da microalga *Chlorella vulgaris* BEIJERINCK em meio composto por águas residuárias. **Águas Subterrâneas**, v. 35, n. 3, 2021.

ASTM – American Society for Testing and Materials. **D6751**. Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels1, 2023

BABIAK, W.; KRZEMIŃSKA, I. Extracellular polymeric substances (EPS) as microalgal bioproducts: a review of factors affecting eps synthesis and application in flocculation processes. **Energies**, v. 14, n. 13, p. 4007, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/en14134007>. Acesso em: 6 ago. 2024.

BARBOSA, A. F. S. **Cultivo de *Rhodotorula glutinis* em manipueira para a produção de suplemento vitamínico e proteico**. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Universidade Federal da Bahia. Vitória da Conquista, 2017. Disponível em: https://biocienciasims.ufba.br/sites/biocienciasims.ufba.br/files/ana_flavia_souto_barbosa.pdf. Acesso em: 6 jul. 2024.

BARBOSA, T. M. *et al.* Convection in liquid-state NMR: expect the unexpected. **RSC Advances**, v. 6, n. 97, p. 95173-95176, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c6ra23427e>. Acesso em: 18 jul. 2024.

BARNES, H.A.; HUTTON, J.F.; WALTERS, K. **An introduction to rheology**. Elsevier; 1989.

BARRE, S.; BATES, S. (ed.). **Blue biotechnology: production and use of marine molecules**. Weinheim, Germany: John Wiley & Sons; 2018. 973 p.

BARRETO, M. T. L. *et al.* Atributos químicos de dois solos submetidos à aplicação de manipueira. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v. 8, n. 4, p. 528-534, 28 dez. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5039/agraria.v8i4a2425>. Acesso em: 2 out. 2023.

BELACHQER-EL ATTAR, S. *et al.* Influence of culture media composition on the rheology of microalgae concentrates on a large scale. **New Biotechnology**, v. 77, p. 90-99, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2023.07.005>

BEZERRA, M. A. **Aplicação de matriz de Doehlert na otimização de um sistema de pré-concentração em linha para determinação de cobre usando Espectrometria de absorção atômica com chama**. 2003. Dissertação (Mestrado em Química) –Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2003.

BEZERRA, M. A. *et al.* Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965-977, 15 set. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>. Acesso em: 5 jul. 2024.

BHAT, I. M. *et al.* Advances in xanthan gum production, modifications and its applications. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102328, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102328>. Acesso em: 8 jul. 2024.

BORAH, D.; ROUT, J.; NOORUDDIN, T. Phycoremediation and water reuse in bioenergy production from algae and cyanobacteria in relevance to sustainable development goals. *In*: DEGHANI, M. H. *et al.* (ed.) **Water, the environment, and the sustainable development goals**. Amstrdam: Elsevier, 2024. p. 375-406.

BORGES, A. V. *et al.* Biopolymers synthesized by microalgae grown in wastewater: a technological survey. **BioEnergy Research**, v. 17, n. 1, p. 73-86, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10680-w>. Acesso em: 25 jul. 2024.

BOUNAIX, M. S. *et al.* Biodiversity of Exopolysaccharides Produced from Sucrose by Sourdough Lactic Acid Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10889-10897, nov. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf902068t>. Acesso em: 29 jul. 2024.

BRANDÃO, L.V. **Goma xantana obtida por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel**: produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo. 2012. 185 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Bahia, UFBA/BA, Salvador, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/18832>. Acesso em: 23 jul. 2024

BRANDÃO, L.V. *et al.* Bioconversion from crude glycerin by *Xanthomonas campestris* 2103: xanthan production and characterization. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, p. 737-746, 2013.

BRASIL, B. S. A. F.; SILVA, F. C. P.; SIQUEIRA, F. G. Microalgae biorefineries: the Brazilian scenario in perspective. **New Biotechnology**, v. 39, p. 90-98, out. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.04.007>. Acesso em: 5 jul. 2024

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Indústria, Comércio e Serviços. **Nova indústria Brasil – forte, transformadora e sustentável**: plano de ação para a neointustrialização 2024-2026 Brasília, DF: CNDI, MDIC, 2024. 102 p. Disponível em: <https://www.gov.br/mdic/pt-br/composicao/se/cndi/plano-de-acao/nova-industria-brasil-plano-de-acao.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2024.

CALDERÓN-DELGADO, I. C.; MORA-SOLARTE, D. A.; VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M. Physiological and enzymatic responses of *Chlorella vulgaris* exposed to produced water and its potential for bioremediation. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 6, maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7519-8>. Acesso em: 5 jul. 2024.

ÇALIŞKAN, G. *et al.* Green synthesis of metal nanoparticles using microalga *Galdieria* sp. *In: ÇALIŞKAN, G. et al. IFMBE Proceedings*. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 219-224.

CARDOSO, L. G. *et al.* *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation in outdoor pilot scale using aquaculture wastewater: High biomass, carotenoid, lipid and carbohydrate production. **Aquaculture**, v. 525, 735272, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735272>. Acesso em: 21 jul. 2024.

CARDOSO, L. G. *et al.* Effect of nitrate on *Ankistrodesmus fusiformis* culture: evaluation of growth, biomolecules and extracellular polymeric substances (EPS). **Journal of Applied Phycology**, v. 35, p. 1037-1045. abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-023-02964-7>. Acesso em: 6 ago. 2024.

CARVALHO, J. C. *et al.* Biorefinery integration of microalgae production into cassava processing industry: potential and perspectives. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 1165-1172, jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.213>. Acesso em: 21 jul. 2024.

CARVALHO, N. S. C. **Valoração do glicérol bruto a partir do cultivo heterotrófico de microalgas**: otimização e caracterização dos bioprodutos. 2022. 148 f. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2022.

CASÁ, N. E. *et al.* *Chlorella vulgaris* cultivation using ricotta cheese whey as substrate for biomass production. **Journal of Applied Phycology**, v. 34, n. 2, p. 745-756, 27 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02685-3>. Acesso em: 8 jul. 2024.

CASTRO, C.; DONATI, E. R.; VERA, M. Characterization of extracellular polymeric substances produced by an acidianus species and their relevance to bioleaching. **Minerals**, v. 13, n. 3, p. 310, 23 fev. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/min13030310>. Acesso em: 6 jul. 2024

CECHIN, A. **A natureza como limite da economia**: a contribuição de Georgescu-Roegen. São Paulo: Senac: Edusp, 2010. 364 p.

CHAN, S. S. *et al.* Recent advances biodegradation and biosorption of organic compounds from wastewater: microalgae-bacteria consortium - a review. **Bioresource Technology**, v. 344, 126159, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126159>. Acesso em: 21 jul. 2024.

CHANG, C.-H. *et al.* In situ catalyst-free biodiesel production from partially wet microalgae treated with mixed methanol and castor oil containing pressurized CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 157, p. 104702, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104702>. Acesso em: 6 jul. 2024.

CHIETI, M. G. *et al.* Acclimated green microalgae consortium to treat sewage in an alternative urban WWTP in a coastal area of Central Italy. **Science of The Total Environment**, v. 945, p. 174056, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.174056>. Acesso em: 7 jul. 2024.

CHOI, S. *et al.* An SAO-based text-mining approach for technology roadmapping using patent information. **R&D Management**, v. 43, n. 1, p. 52-74, 29 nov. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-9310.2012.00702.x>. Acesso em: 5 jul. 2024.

CHUNFENG, S. *et al.* **CO₂ capture method based on coupling of chemical absorption and biological transformation enhanced by waste water culture**. Depositante: Tianjin University. CN109621699. Depósito: 29 dez. 2018. Concessão: 16 abr. 2019.

CHUNFENG, S. *et al.* **Research method for purifying tofu wastewater by using microalgae culture**. Depositante: Tianjin University. CN107760605. Depósito: 27 nov. 2017. Concessão: 06.03.2018.

CHURCH, J. *et al.* Effect of salt type and concentration on the growth and lipid content of *Chlorella vulgaris* in synthetic saline wastewater for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 147-153, nov. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.081>. Acesso em: 3 ago. 2024.

CIURLI, A. *et al.* Influence of zinc and manganese enrichments on growth, biosorption and photosynthetic efficiency of *Chlorella* sp. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 8539-8555, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11033-2>. Acesso em: 6 jul. 2024.

CNI - CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. **Plano de retomada da indústria: propostas prioritárias para os 100 primeiros dias de governo**. Brasília, DF: CNI, 2023. Disponível em: https://static.portaldaindustria.com.br/media/filer_public/9b/fc/9bfce9f4-63e9-46f8-9823-65403f4df079/proposta_100_dias_2023_mdic_3.pdf. Acesso em: 12 mar. 2023

CONCAS, A.; LUTZU, G. A.; TURGUT DUNFORD, N Experiments and modeling of *Komvophoron* sp. Growth in hydraulic fracturing wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 426, p. 131299, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131299>. Acesso em: 5 jul. 2024.

CORREIA, I. A. S. *et al.* Caracterização da manipueira e possibilidades de tratamento. **Colloquium Exactarum**, v.10, p.180-185, dez. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.5747/ce.2018.v10.nesp.000177>. Acesso em: 5 jul. 2024.

COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Aplicações industriais de microalgas. *In*: ALMEIDA LIMA; U.(org.). **Biotecnologia industrial**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2019. v. 3. p 487-506.

COSTA, S. S. *et al.* Influence of nitrogen on growth, biomass composition, production, and properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by microalgae. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 552-562, set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.064>. Acesso em: 29 jul. 2024.

COSTA, S. S. *et al.* Microalgae as source of polyhydroxyalkanoates (PHAs) — A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 536-547, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.099>. Acesso em: 5 jul. 2024.

COSTAS COSTAS, E. *et al.* **Method for recovering and enriching uranium by means of bioaccumulation in genetically improved microalgae.** Depositante: Universidad Complutense de Madrid. WO2014087030. Depósito: 04 dez. 2012. Concessão: 12 jun. 2014

CRUZ, I. A. *et al.* Valorization of cassava residues for biogas production in Brazil based on the circular economy: An updated and comprehensive review. **Cleaner Engineering and Technology**, v. 4, p. 100196, out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clet.2021.100196>. Acesso em: 5 jul. 2024.

DALIRY, S. *et al.* Investigation of optimal condition for *Chlorella vulgaris* microalgae growth. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 3, n. 2, p. 217-230, 2017.

DAS, P. *et al.* Microalgal bioremediation of petroleum-derived low salinity and low pH produced water. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 1, p. 435-444, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1571-6>. Acesso em: 21 jul. 2024.

DERDAK, R. *et al.* Screening, optimization and characterization of exopolysaccharide produced by novel strains isolated from Moroccan raw donkey milk. **Food Chemistry: X**, v. 14, 100305, abr. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100305>. Acesso em: 29 jul. 2024.

DIANKRISTANTI, P. A. *et al.* Unlocking the potential of microalgae as sustainable bioresources from up to downstream processing: A critical review. **Chemical Engineering Journal**, v. 488, 151124, maio 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.151124>. Acesso em: 24 jul. 2024.

DIAS, L. T; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 692-700, ago. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000400015>. Acesso em: 6 jul. 2024.

DIMRI, R. *et al.* Role of microalgae as a sustainable alternative of biopolymers and its application in industries. **Plant Science Today**, v. 10, n. SP2, p. 8-18, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.14719/pst.2460>. Acesso em: 18 jul. 2024.

DONG, W.; ZONGYI, W. **Apparatus and process for treating breeding wastewater in pig farm and producing algal powder by utilizing microalgae.** Depositante: South China University of Technology. CN108249574. Depósito: 13 dez. 2017. Concessão: 06 jun. 2021.

ELLEN MACARTHUR FOUNDATION. **Completing the picture: how the circular economy tackles climate change.** Ellen MacArthur Found, 2019.

ENZING, C. *et al.* **Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe.** Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2014 p. 1017-1024.

EN – European Committee for Standardization. **EN 14214.** Liquid petroleum products - Fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications - Requirements and test methods. 2019.

FALLAHI, A. *et al.* Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: a review. **Chemosphere**, v. 272, 129878, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129878>. Acesso em: 21 jul. 2024.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Portal Lactéo**. 2022. Disponível em: <https://www.fao.org/dairy-production-products/production/es/>. Acesso em: 22 set. 2022.

FAO – Food and Agriculture Organization. **The future of food and agriculture: alternative pathways to 2050**. Rome: FAO, 2018. 60 p.

FENG, Q. *et al.* What has caused desertification in China? **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, 3 nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep15998>. Acesso em: 6 jul. 2024.

FENG, S. *et al.* **Device and a method for producing biodiesel in a coupling way by treating livestock and poultry breeding wastewater**. Depositante: Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences. CN103086520. Depósito: 13 jan. 2013. Concessão: 15 maio 2014.

FENG, Y.; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 101-105, jan. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.016>. Acesso em: 6 jul. 2024.

FERNÁNDEZ, F. G. A. *et al.* The role of microalgae in the bioeconomy. **New Biotechnology**, v. 61, p. 99-107, mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.11.011>. Acesso em: 6 jul. 2024.

FERREIRA, B. H. **Estudo dos processos de tratamento de água produzida de petróleo**. 2016. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação Engenharia de Petróleo) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/39499>. Acesso em: 24 jul. 2024.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061-1067, jul. 2004b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015>. Acesso em: 3 ago. 2024.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, maio 1957. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5). Acesso em: 6 jul. 2024

FRANCISCO, W. C.; QUEIROZ, T. M. Biorremediação. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 249, 2018. Disponível em: <http://www.nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/1700>. Acesso em: 24 jul. 2024.

FRANCO-MORGADO, M. *et al.* Microalgae and cyanobacteria polysaccharides: Important link for nutrient recycling and revalorization of agro-industrial wastewater. **Applied Food Research**, v. 3, n. 1, p. 100296, jun. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100296>. Acesso em: 29 jul. 2024.

FURTADO, C. **O longo amanhecer: reflexões sobre a formação do Brasil**. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1999.

FURTADO, D. M. S. **Cultura da mandioca: um estudo da composição mineral e centesimal dos seus derivados**. 2010 Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará-UFPA, Belém, PA, Brasil. 2010.

GAO, L. *et al.* Technology life cycle analysis method based on patent documents. **Technological Forecasting and Social Change**, v. 80, n. 3, p. 398-407, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2012.10.003>. Acesso em: 6 jul. 2024.

GAO, P. *et al.* Regulation of carbon source metabolism in mixotrophic microalgae cultivation in response to light intensity variation. **Journal of Environmental Management**, v. 302, p. 114095, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114095>. Acesso em: 6 jul. 2024.

GARRIDO-CARDENAS, J. A. *et al.* Microalgae research worldwide. **Algal Research**, v. 35, p. 50-60, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.005>. Acesso em: 19 jul. 2024.

GIAMPOURAS, P. V. *et al.* Simultaneously sparse and low-rank abundance matrix estimation for hyperspectral image unmixing. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, v. 54, n. 8, p. 4775-4789, ago. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1109/tgrs.2016.2551327>. Acesso em: 24 jul. 2024.

GILLARD, J. T. F. *et al.* Potential for biomass production and remediation by cultivation of the marine model diatom *Phaeodactylum tricornutum* in oil field produced wastewater media. **Water**, v. 13, n. 19, p. 2700, 29 set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w13192700>. Acesso em: 25 jul. 2024.

GIULIANETTI DE ALMEIDA, M. P.; MOCKAITIS, G.; WEISSBRODT, D. G. Got whey? Sustainability endpoints for the dairy industry through resource biorecovery. **Fermentation**, v. 9, n. 10, p. 897, 8 out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation9100897>. Acesso em: 6 jul. 2024

GODFREY, V. **Production of biodiesel from oleaginous organisms using underutilized wastewaters**. 2012. 153 f. Thesis (Master of Science) – Utah State University, 2012. Disponível em: <https://digitalcommons.usu.edu/etd/1337>. Acesso em: 21 jul. 2024.

GOLDBERG, S. Brasil pode ser o quarto maior produtor de óleo no mundo. **Valor Econômico**, São Paulo, 28 abr. 2023. Disponível em: <https://valor.globo.com/brasil/noticia/2023/04/28/brasil-pode-ser-o-quarto-maior-produtor-de-oleo-do-mundo.ghtml>. Acesso em: 10 de jun de 2024.

GOTTARDO, M. *et al.* Producing volatile fatty acids and polyhydroxyalkanoates from foods by-products and waste: a review. **Bioresource Technology**, v. 361, p. 127716, out. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127716>. Acesso em: 6 jul. 2024.

GROVES, P. Diffusion ordered spectroscopy (DOSY) as applied to polymers. **Polymer Chemistry**, v. 8, n. 44, p. 6700-6708, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c7py01577a>. Acesso em: 2 ago. 2024.

GUOHUA, D. *et al.* **Method for treating high nitrate wastewater by using microalgae**. Depositante; China Petroleum e Chemical Corporation; Sinopec Shanghai Engineering Co. Ltd. CN109467191. Depósito: 21 dez. 2017. Concessão: 15 mar. 2019.

HAJJAR RAKHMADUMILA, D.; SETIANI MUNTALIF, B. Artificial produced water as a medium to grow *Chlorella* sp. for biodiesel production. **E3S Web of Conferences**, v. 148, 02005, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014802005>. Acesso em: 21 jul. 2024.

HEMAISWARYA, S. *et al.* Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 8, p. 1737-1746, dez. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0632-z>. Acesso em: 7 jul. 2024.

HENDRANINGRAT, L.; TORSÆTER, O. Metal oxide-based nanoparticles: revealing their potential to enhance oil recovery in different wettability systems. **Applied Nanoscience**, v. 5, n. 2, p. 181-199, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0305-6>. Acesso em: 7 jul. 2024.

HERNÁNDEZ-GARCÍA, A. *et al.* Wastewater-leachate treatment by microalgae: biomass, carbohydrate and lipid production. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 435-444, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.052>. Acesso em: 24 jul. 2024.

HODGES, A. *et al.* Nutrient and suspended solids removal from petrochemical wastewater via microalgal biofilm cultivation. **Chemosphere**, v. 174, p. 46-48, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.107>. Acesso em: 25 out. 2023.

HOFF, H. **Understanding the Nexus**. In: BONN2011 CONFERENCE: The Water, Energy and Food Security Nexus. Stockholm: Stockholm Environment Institute, 2011.

HONG, S. *et al.* **Screening of microalgae for efficiently treating and recycling livestock wastewater of pig farms**. Depositante: Zhejiang Academy of Agricultural Sciences. CN107916226. Depósito: 13 out. 2017. Concessão: 27 nov. 2020.

HOPKINS, T. C. *et al.* Effects of salinity and nitrogen source on growth and lipid production for a wild algal polyculture in produced water media. **Algal Research**, v. 38, p. 101406, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.101406>. Acesso em: 7 jul. 2024.

HOSSAIN, N. *et al.* Techno-economics and Sensitivity analysis of microalgae as commercial feedstock for bioethanol production. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 38, n. 5, p. 13157, jan. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ep.13157>. Acesso em: 7 jul. 2024.

- HU, R. *et al.* Progress on microalgae biomass production from wastewater phycoremediation: metabolic mechanism, response behavior, improvement strategy and principle. **Chemical Engineering Journal**, p. 137187, maio 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137187>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- HYEON, B. H. *et al.* Bio-Vision 2016: The second national framework plan for biotechnology promotion in Korea. **Biotechnology Journal**, v. 3, n. 5, p. 591-600, maio 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/biot.200700248>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- HYUNG, K. *et al.* **System for decontaminating radioactive polluted water**. Depositante: Orion EnC Co Ltd. KR20190017447A. Depósito: 11 ago. 2011. Concessão: 20 fev. 2019.
- JACOB, J. M. *et al.* Microalgae: a prospective low cost green alternative for nanoparticle synthesis. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 20, p. 100163, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2019.12.005>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- JACOB, S. *et al.* Paradigm of integrative OMICS of microbial technology towards biorefinery prospects. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 58, p. 103226, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103226>. Acesso em: 27 out. 2023.
- JAÉN-GIL, A. *et al.* Sustainable microalgae-based technology for biotransformation of benzalkonium chloride in oil and gas produced water: a laboratory-scale study. **Science of the Total Environment**, v. 748, 141526, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141526>. Acesso em: 21 jul. 2024.
- JAREONSIN, S.; PUMAS, C. Advantages of heterotrophic microalgae as a host for phytochemicals production. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.628597>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- JAVED, F. *et al.* Microalgae-based biofuels, resource recovery and wastewater treatment: a pathway towards sustainable biorefinery. **Fuel**, v. 255, p. 115826, nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115826>. Acesso em: 7 jul. 2024
- JESUS, C. S. *et al.* Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. **Bioresource Technology**, v. 256, p. 86-94, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.149>. Acesso em: 18 jul. 2024.
- JESUS, C. S. *et al.* Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 124, p. 1106-1114, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- JIMÉNEZ, S. *et al.* State of the art of produced water treatment. **Chemosphere**, v. 192, p. 186-208, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.139>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- JIYONG, J. **Method for breeding microalgae to produce golden carp feed by utilizing piggery wastewater**. CN108991281. Depósito: 09 jul. 2018. Concessão: 14 dez. 2018.

KADRI, M. S. *et al.* Greening the oil industry: microalgae biorefinery for sustainable oil-produced water treatment and resource recovery. **Journal of Water Process Engineering**, v. 60, p. 105259, abr. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105259>. Acesso em: 7 jul. 2024..

KATIYAR, R. *et al.* Heterotrophic cultivation of microalgae in photobioreactor using low cost crude glycerol for enhanced biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 113, p. 1359-1365, dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.06.100>. Acesso em: 12 out. 2023.

KARAN, H. *et al.* Green bioplastics as part of a circular bioeconomy. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 3, p. 237-249, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.11.010>. Acesso em: 7 jul. 2024.

KAZACHENKO, A. S. *et al.* Food xanthan polysaccharide sulfation process with sulfamic acid. **Foods**, v. 10, n. 11, p. 2571, 25 out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10112571>. Acesso em: 7 jul. 2024.

KESICKI, F. The third oil price surge – What’s different this time? **Energy Policy**, v. 38, n. 3, p. 1596-1606, mar. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2009.11.044>. Acesso em: 7 jul. 2024.

KHAIRUDDIN, N. F. M. *et al.* Produced water treatment by semi-continuous sequential bioreactor and microalgae photobioreactor. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 11, n. 1, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40643-024-00775-3>. Acesso em: 24 jul. 2024.

KHANRA, A. *et al.* Application of unsaturated fatty acid molecules derived from microalgae toward mild steel corrosion inhibition in HCl Solution: a novel approach for metal–inhibitor association. **ACS Omega**, v. 3, n. 10, p. 12369-12382, out. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01089>. Acesso em: 21 jul. 2024.

KHORAMIAN, R.; KHARRAT, R.; GOLSHOKOOH, S. The development of novel nanofluid for enhanced oil recovery application. **Fuel**, v. 311, p. 122558, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.122558>.

KIM, J.; PARK, H. Toward faster nonnegative matrix factorization: a new algorithm and comparisons. In: 2008 EIGHTH IEEE INTERNATIONAL CONFERENCE ON DATA MINING (ICDM), 2008, Pisa, Italy: IEEE, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1109/icdm.2008.149>. Acesso em: 2 ago. 2024.

KOÇER, A. T. *et al.* Exopolysaccharides from microalgae: production, characterization, optimization and techno-economic assessment. **Brazilian Journal of Microbiology**, set. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00575-3>. Acesso em: 2 ago. 2024.

KOYANDE, A. K. *et al.* Bio-processing of algal bio-refinery: a review on current advances and future perspectives. **Bioengineered**, v. 10, n. 1, p. 574-592, jan. 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1679697>. Acesso em: 7 jul. 2024.

KOYANDE, A. K. *et al.* Emerging algal nanotechnology for high-value compounds: a direction to future food production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 116, p. 290-

302, out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.026>. Acesso em: 24 jul. 2024.

KOYANDE, A. K. *et al.* Microalgae: a potential alternative to health supplementation for humans. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 1, p. 16-24, mar. 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.001>. Acesso em: 20 jul. 2024.

LACERDA, A. **Reindustrialização: para o desenvolvimento brasileiro**. São Paulo: Contracorrente, 2022. 200 p.

LARSEN, F. H.; ENGELSEN, S. B. Insight into the functionality of microbial exopolysaccharides by nmr spectroscopy and molecular modeling. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01374>. Acesso em: 2 ago. 2024.

LAVELLI, V.; BECCALLI, M. P. Cheese whey recycling in the perspective of the circular economy: modeling processes and the supply chain to design the involvement of the small and medium enterprises. **Trends in Food Science & Technology**, v. 126, p. 86-98, ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.06.013>. Acesso em: 24 jul. 2024.

LEI, A. *et al.* Antioxidant responses of microalgal species to pyrene. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 1, p. 67-78, fev. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-005-9016-4>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LEI, Z. *et al.* **Method for continuously producing microalgae**. Depositante; China Petroleum e Chemical Corporation; Sinopec Shanghai Engineering Co. Ltd. CN109337820. Depósito: 10 dez. 2018. Concessão: 15 fev. 2019.

LEI, Z.; WENJING, S. XIN, W. **Flue gas desulfurization and denitrification method and device**. Depositante: China Petroleum e Chemical Corporation. CN109939548. Depósito: 21 dez. 2017. Concessão: 09 set. 2021.

LI, F.; SRIVATSA, S. C.; BHATTACHARYA, S. A review on catalytic pyrolysis of microalgae to high-quality bio-oil with low oxygenous and nitrogenous compounds. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 108, p. 481-497, jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.026>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LI, J. *et al.* Biological potential of microalgae in China for biorefinery-based production of biofuels and high value compounds. **New Biotechnology**, v. 32, n. 6, p. 588-596, dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.02.001>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LI, J. *et al.* Structural characterization of exopolysaccharides from *Weissella cibaria* NC516.11 in distiller grains and its improvement in gluten-free dough. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 199, p. 17-23, fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.089>. Acesso em: 2 ago. 2024.

LI, S. *et al.* Efficient accumulation of high-value bioactive substances by carbon to nitrogen ratio regulation in marine microalgae *Porphyridium purpureum*. **Bioresource Technology**, v. 309, p. 123362, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123362>. Acesso em: 2 out. 2023.

- LI, S.; LI, X.; HO, S. H. Microalgae as a solution of third world energy crisis for biofuels production from wastewater toward carbon neutrality: An updated review. **Chemosphere**, v. 291, p. 132863, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132863>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- LI, T. *et al.* The mechanism of polysaccharide synthesis of *Sanguangporus sanguang* based on multi-omic analyses and feedback inhibition. **Carbohydrate Polymers**, p. 121288, ago. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121288>. Acesso em: 13 out. 2023.
- LI, Y. R. *et al.* Comparison of autotrophic and mixotrophic cultivation of green microalgal for biodiesel production. **Energy Procedia**, v. 52, p. 371-376, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.07.088>. Acesso em: 3 ago. 2024.
- LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. **Biotechnology Letters**, v. 31, n. 7, p. 1043-1049, 27 mar. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10529-009-9975-7>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- LIU, J. *et al.* Determination of ash content and concomitant acquisition of cell compositions in microalgae via thermogravimetric (TG) analysis. **Algal Research**, v. 12, p. 149-155, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.018>. Acesso em: 7 jul. 2024..
- LIU, J. *et al.* Nexus approaches to global sustainable development. **Nature Sustainability**, v. 1, n. 9, p. 466-476, set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0135-8>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- LIU, Y. *et al.* A review of treatment technologies for produced water in offshore oil and gas fields. **Science of the Total Environment**, v. 775, p. 145485, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145485>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- LOURENÇO, S. A. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. 606 p.
- LU, Q. *et al.* Growing *Chlorella* sp. on meat processing wastewater for nutrient removal and biomass production. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 189-197, dez. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.133>. Acesso em: 24 jul. 2024.
- LU, W. *et al.* Critical processes and variables in microalgae biomass production coupled with bioremediation of nutrients and CO₂ from livestock farms: a review. **Science of the Total Environment**, v. 716, p. 135247, maio 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135247>. Acesso em: 3 ago. 2024.
- LUBARSKY, H. V. *et al.* The stabilisation potential of individual and mixed assemblages of natural bacteria and microalgae. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11, p. e13794, 2 nov. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013794>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- LUO, D.; REN, Z. Synthesis of sodium nanoparticles for promising extraction of heavy oil. **Materials Today Physics**, v. 16, p. 100276, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mtphys.2020.100276>. Acesso em: 6 ago. 2024.

LUTZU, G. A. *et al.* Latest developments in wastewater treatment and biopolymer production by microalgae. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104926, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104926>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LUTZU, G. A.; DUNFORD, N. T. Algal treatment of wastewater generated during oil and gas production using hydraulic fracturing technology. **Environmental Technology**, v. 40, n. 8, p. 1027-1034, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1415983>. Acesso em: 21 jul. 2024.

MACÊDO-JÚNIOR, R. O. *et al.* Produced water treatment and its green future in the oil and gas industry: a multi-criteria decision-making study. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, 1369-1384, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04057-3>. Acesso em: 25 jul. 2024.

MADADI, R. *et al.* Treatment of petrochemical wastewater by the green algae *Chlorella vulgaris*. **International Journal of Environmental Research**, v. 10, n. 4, p. 555-560, 2016. Disponível em: 10.22059/IJER.2016.59684. Acesso em: 21 jul. 2024.

MAGHZIAN, A.; ASLANI, A.; ZAHEDI, R. A comprehensive review on effective parameters on microalgae productivity and carbon capture rate. **Journal of Environmental Management**, v. 355, p. 120539, mar. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120539>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MALIK, A.; GARG, V. K. **Bioremediation for sustainable environmental cleanup**. Boca Raton: CRC Press, 2024

MANHAEGHE, D. *et al.* Experimental assessment and mathematical modelling of the growth of *Chlorella vulgaris* under photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. **Water Research**, v. 184, p. 116152, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116152>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MAO, J. *et al.* Characterization of a nitrogen-rich fulvic acid and its precursor algae from solid state NMR. **Organic Geochemistry**, v. 38, n. 8, p. 1277-1292, ago. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2007.04.005>. Acesso em: 2 ago. 2024.

MARCILHAC, C. *et al.* Control of nitrogen behaviour by phosphate concentration during microalgal-bacterial cultivation using digestate. **Bioresource Technology**, v. 175, p. 224-230, jan. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.022>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MARIANI, L. *et al.* Análise de oportunidades e desafios para o Nexó Água-Energia. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 37, p. 9-30, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5380/dma.v37i0.45046>. Acesso em: 6 jul. 2024.

MARQUES, I. M. *et al.* A photobioreactor using *Nannochloropsis oculata* marine microalgae for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and sorption of metals in produced water. **Chemosphere**, v. 281, p. 130775, out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130775>. Acesso em: 7 jul. 2024.

- MASCARENHAS, K. UFLA é referência em modernização da produção de leite em Minas Gerais. **Portal UFLA**, Lavras, abr. 2024. Disponível em: <https://ufla.br/noticias/pesquisa/16664-ufla-e-referencia-em-modernizacao-da-producao-de-leite-em-minas-gerais#:~:text=O%20Brasil%20é%20o%20terceiro,maior%20participação%20entre%20os%20Estados>. Acesso em: 10 jun 2024.
- MAZZUCATO, M. Building the entrepreneurial state: a new framework for envisioning and evaluating a mission-oriented public sector. **SSRN Electronic Journal**, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2139/ssrn.2544707>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- MELO JR., M. A. *et al.* Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422012000900030>. Acesso em: 7 jul. 2024..
- MENG, Q. *et al.* Rheological properties and thickening effect of high molecular weight exopolysaccharide and intracellular polysaccharide from *Schizophyllum commune*. **Food Hydrocolloids**, v. 144, p. 108920, nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108920>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- MILANO, J. *et al.* Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 180-197, maio 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.150>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- MINHAT, Z. B. T *et al.* Differentiation of biomass composition between isolated and commercial strains of microalgae. **Journal of Engineering Science and Technology**, v. 11, n. 5, p. 737-744, 2016.
- MISHRA, A. *et al.* Omics approaches for microalgal applications: prospects and challenges. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121890, nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121890>. Acesso em: 12 out. 2023.
- MISIRLI, G. M. **Produção e sanitário de nanopartículas de prata (prata coloidal)**. 2021. 197 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/51648>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- MOHAMMED, T. J.; SHAKIR, E. Effect of settling time, velocity gradient, and camp number on turbidity removal for oilfield produced water. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 27, n. 1, p. 31-36, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.12.006>. Acesso em: 22 jul. 2024.
- MOJARAD, A. A. S.; ATASHBARI, V.; TANTAU, A. Challenges for sustainable development strategies in oil and gas industries. **Proceedings of the International Conference on Business Excellence**, v. 12, n. 1, p. 626-638, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/picbe-2018-0056>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- MORA-GODÍNEZ, S.; ABRIL-MARTÍNEZ, F.; PACHECO, A. Green synthesis of silver nanoparticles using microalgae acclimated to high CO₂. **Materials Today: Proceedings**, v.

48, p. 5-9, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.04.761>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MORAIS, M. G. *et al.* Biologically active metabolites synthesized by microalgae. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/835761>. Acesso em: 25 jul. 2024.

MORAIS, M. G. *et al.* Exopolysaccharides from microalgae: Production in a biorefinery framework and potential applications. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, 101006, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101006>. Acesso em: 18 jul. 2024.

MOREIRA, J. B. *et al.* Recent advances of microalgae exopolysaccharides for application as biofloculants. **Polysaccharides**, v. 3, n. 1, p. 264-276, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010015>. Acesso em: 18 jul. 2024.

MORENO-GARCÍA, L. *et al.* Biorefinery of microalgae biomass cultivated in wastewaters. *In: MORENO GARCÍA, L. et al. Refining biomass residues for sustainable energy and bioproducts.* [S. l.]: Elsevier, 2020. p. 149-180. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818996-2.00007-7>. Acesso em: 21 jul. 2024.

MORENO-GARCIA, L. *et al.* Microalgae biomass production for a biorefinery system: Recent advances and the way towards sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 493-506, set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.03.024>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MORENO-GARCIA, L. *et al.* Optimization of the proportions of four wastewaters in a blend for the cultivation of microalgae using a mixture design. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 168-173, jul. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.067>. Acesso em: 21 jul. 2024.

MOTTA, A. R. P. *et al.* Tratamento de água produzida de petróleo para remoção de óleo por processos de separação por membranas: revisão. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 15-26, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522013000100003>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MUHAMMAD, G. *et al.* Enhanced biodiesel production from wet microalgae biomass optimized via response surface methodology and artificial neural network. **Renewable Energy**, v. 184, p. 753-764, jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.11.091>. Acesso em: 7 jul. 2024.

NANQUI, R. *et al.* **Method for treating starch wastewater and simultaneously generating renewable energy source.** Depositante: Harbin Institute of Technology. CN104789603. Depósito: 19 maio 2015. Concessão: 22 jun. 2015.

NASCIMENTO, I. A. *et al.* Microalgae versus land crops as feedstock for biodiesel: productivity, quality, and standard compliance. **BioEnergy Research**, v. 7, p. 1002-1013, mar. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-014-9440-x>. Acesso em: 18 jul. 2024.

NASCIMENTO, I. A. *et al.* Screening Microalgae strains for biodiesel production: lipid productivity and estimation of fuel quality based on fatty acids profiles as selective criteria. **BioEnergy Research**, v. 6, n. 1, p. 1-13, 26 mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9222-2>. Acesso em: 6 ago. 2024.

NAVARRO GALLÓN, S. M. *et al.* Characterization and study of the antibacterial mechanisms of silver nanoparticles prepared with microalgal exopolysaccharides. **Materials Science and Engineering: C**, v. 99, p. 685-695, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.134>. Acesso em: 6 jul. 2024.

NEAL, J. N. *et al.* **Recycling produced water for algal cultivation for biofuels**. [S. l.]: Office of Scientific and Technical Information (OSTI), 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2172/1048383>. Acesso em: 21 jul. 2024

NEGM, N.; YOUSEF, M.; TAWFIK, S. Impact of synthesized and natural compounds in corrosion inhibition of carbon steel and aluminium in acidic media. **Recent Patents on Corrosion Science**, v. 3, n. 1, p. 58-68, set. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/2210683911303010007>. Acesso em: 7 jul. 2024.

NICOLAU, M. C. M. **Avaliação de antioxidantes no cultivo da microalga *Messastrum gracile* (Reinsch)** TS Garcia. 2020. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2020.

NIZAMI, A. S. *et al.* Waste biorefineries: enabling circular economies in developing countries. **Bioresource Technology**, v. 241, p. 1101-1117, out. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.097>. Acesso em: 7 jul. 2024

NOVAES, C. G. *et al.* Optimization of analytical methods using response surface methodology - part I: process variables. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, p. 1184-1215, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170070>. Acesso em: 7 jul. 2024.

NOZAKI, H. *et al.* A 100%-complete sequence reveals unusually simple genomic features in the hot-spring red alga *Cyanidioschyzon merolae*. **BMC Biology**, v. 5, n. 1, jul. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1741-7007-5-28>. Acesso em: 7 jul. 2024.

OGHENEJOBH, K. M. *et al.* Value added cassava waste management and environmental sustainability in Nigeria: a review. **Environmental Challenges**, v. 4, p. 100127, ago. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100127>. Acesso em: 7 jul. 2024.

OLIVEIRA NETO, F. R. **Estudo de revisão bibliográfica sobre o tema: tijolos ecológicos modulares (solo-cimento), com adição de manipueira e resíduos sólidos de descarte**. 2022. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciência e Tecnologia) – Universidade Federal do Semi-Árido, Mossoró, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/7987>. Acesso em: 25 jul. 2024.

OLIVEIRA, A. S. *et al.* Adding technology sustainability evaluation to product development: a proposed methodology and an assessment model. **Sustainability**, v. 13, n. 4, p. 2097, 16 fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/su13042097>. Acesso em: 7 jul. 2024.

- ORTIZ CANTÚ, S.; PEDROZA ZAPATA, Á. R. ¿ Qué es la Gestión de la Innovación y la Tecnología (GIInT). **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 1, n. 2, p. 64-82, 2006. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/847/84710206.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2024.
- OZTURK, S. *et al.* Metal removal of cyanobacterial exopolysaccharides by uronic acid content and monosaccharide composition. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 265-271, jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.040>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- PAIXÃO, J. F. *et al.* Estimating the gasoline components and formulations toxicity to microalgae (*Tetraselmis chuii*) and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) embryos: an approach to minimize environmental pollution risk. **Environmental Research**, v. 103, n. 3, p. 365-374, mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.06.015>. Acesso em: 25 jul. 2024.
- PANDIT, P. R.; FULEKAR, M. H.; KARUNA, M. S. L. Effect of salinity stress on growth, lipid productivity, fatty acid composition, and biodiesel properties in *Acutodesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 15, p. 13437-13451, abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8875-y>. Acesso em: 6 ago. 2024.
- PARSY, A. *et al.* Cultivation of *Nannochloropsis oculata* in saline oil & gas wastewater supplemented with anaerobic digestion effluent as nutrient source. **Algal Research**, v. 50, 101966, set. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101966>. Acesso em: 21 jul. 2024.
- PATEL, A. *et al.* Heterotrophic cultivation of *Auxenochlorella protothecoides* using forest biomass as a feedstock for sustainable biodiesel production. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, n. 1, 20 jun. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1173-1>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- PATEL, A. *et al.* Microalgae: antiquity to era of integrated technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, p. 535-547, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.081>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- PATEL, A. K. *et al.* Effect of light conditions on mixotrophic cultivation of green microalgae. **Bioresource Technology**, v. 282, p. 245-253, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.024>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- PATEL, A. K. *et al.* Separation and fractionation of exopolysaccharides from *Porphyridium cruentum*. **Bioresource Technology**, v. 145, p. 345-350, out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.038>. Acesso em: 25 jul. 2024.
- PATEL, A. K. *et al.* Novel application of microalgae platform for biodesalination process: a review. **Bioresource Technology**, v. 337, p. 125343, out. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125343>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- PAULA, H. M.; FERNANDES, C. E. Otimização do tratamento de água cinza a partir do uso combinado de coagulantes químicos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 23, n. 5, p. 951-

961, out. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522018169155>. Acesso em: 6 ago. 2024.

PENG, C. *et al.* Toxic effects of individual and combined effects of BTEX on *Euglena gracilis*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 284, p. 10-18, mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.10.024>. Acesso em: 21 jul. 2024.

PEREIRA, E. G. *et al.* Outdoor cultivation of *Scenedesmus obliquus* BR003 in stirred tanks by airlift. **Engenharia Agrícola**, v. 37, n. 5, p. 1041-1055, set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-4430-eng.agric.v37n5p1041-1055/2017>. Acesso em: 25 jul. 2024.

PEREIRA, I. A. *et al.* Extracellular polymeric substances drive symbiotic interactions in bacterial–microalgal consortia. **Microbial Ecology**, abr. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01772-1>. Acesso em: 6 ago. 2024.

PESSÔA, L. C. *et al.* A review of microalgae-based biorefineries approach for produced water treatment: Barriers, pretreatments, supplementation, and perspectives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 108096, jun. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108096>. Acesso em: 7 jul. 2024..

PESSÔA, L. C. *et al.* Exopolysaccharides as bio-based rheology modifiers from microalgae produced on dairy industry waste: towards a circular bioeconomy approach. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 279, p. 135246, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135246>. Acesso em: 10 set. 2024.

PESSÔA, L. C. *et al.* Technological prospection of microalgae-based biorefinery approach for effluent treatment. **Algal Research**, v. 60, p. 102504, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102504>. Acesso em: 7 jul. 2024.

PETER, A. P. *et al.* Continuous cultivation of microalgae in photobioreactors as a source of renewable energy: Current status and future challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, p. 111852, fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111852>. Acesso em: 7 jul. 2024.

PEYDAYESH, M. *et al.* Turning food protein waste into sustainable technologies. **Chemical Reviews**, v. 123, n. 5, p. 2112-2154, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00236>. Acesso em: 7 jul. 2024.

PHAAL, R. *et al.* Charting exploitation strategies for emerging technology. **Research-Technology Management**, v. 55, n. 2, p. 34-42, mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5437/08956308x5502021>. Acesso em: 7 jul. 2024.

PIERRE, G. *et al.* What is in store for EPS microalgae in the next decade?. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 4296, 2019.

PING, D. **Method for purifying wastewater of pig factory by virtue of alga-bacteria symbiotic system**. Depositante: Puding Ganhe Agricultural Development Co., Ltd. CN108892243. Depósito: 13 dez 2017. Concessão: 06 set. 2018.

PINTO, P. H. M.; CAMILI, E. A.; CABELO, C. Processo de flotação no tratamento da manipueira originada da fabricação de farinha de mandioca. **RETEC- Revista de Tecnologias**, v. 3, n. 1, p. 53-62, 2010.

POLETTI, P. *et al.* Evaluation of the operating conditions for the solid-state production of pectinases by *Aspergillus niger* in a bench-scale, intermittently agitated rotating drum bioreactor. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 92-101, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.018>. Acesso em: 7 jul. 2024.

POURJAFAR, H. *et al.* Functional and health-promoting properties of probiotics' exopolysaccharides; isolation, characterization, and applications in the food industry. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-32, 10 mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2047883>. Acesso em: 12 out. 2023.

PRIMEL, E. G. **Método para remoção de poluentes da água de produção de petróleo**. Depositante: Petróleo Brasileiro S. A. – Petrobras. BRPI0800141A2. Pedido: 13 dez. 2008. Concessão: 10 set. 2019.

QIAN, S. *et al.* Ultrasonic-assisted enzymatic extraction of a water soluble polysaccharide from dragon fruit peel and its antioxidant activity. **RSC Advances**, v. 8, n. 73, p. 42145-42152, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c8ra06449k>. Acesso em: 7 jul. 2024.

QIAO, T. *et al.* Hydrogen peroxide and salinity stress act synergistically to enhance lipids production in microalga by regulating reactive oxygen species and calcium. **Algal Research**, v. 53 p. 102017, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102017>. Acesso em: 6 ago. 2024.

RACHARAKS, R.; GE, X.; LI, Y. Cultivation of marine microalgae using shale gas flowback water and anaerobic digestion effluent as the cultivation medium. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 146-156, set. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.065>. Acesso em: 25 jul. 2024.

RAGO, Y. P.; MOHEE, R.; SURROOP, D. A review of thermochemical technologies for the conversion of waste biomass to biofuel and energy in developing countries. *In*: LEAL FILHO, W; SURROP, D. (ed). **The nexus: energy, environment and climate change** Cham: Springer, 2018.

RAHEEM, A. *et al.* Thermogravimetric study of *Chlorella vulgaris* for syngas production. **Algal Research**, v. 12, p. 52-59, nov. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.003>. Acesso em: 8 jul. 2024.

RAHMAN, A. *et al.* A Review of algae-based produced water treatment for biomass and biofuel production. **Water**, v. 12, n. 9, p. 2351, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w12092351>. Acesso em: 7 jul. 2024.

RAHMAN, A. *et al.* Evaluation of *Galdieria sulphuraria* and *Chlorella vulgaris* for the bioremediation of produced water. **Water**, v. 13, n. 9, p. 1183, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/w13091183>. Acesso em: 22 jul. 2024.

RAMA, G. R. *et al.* Potential applications of dairy whey for the production of lactic acid bacteria cultures. *International Dairy Journal*, v. 98, p. 25-37, nov. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.06.012>. Acesso em: 22 out. 2023.

RAMOS, B. F. M.; ALMEIDA, P. F.; CHINALIA, F. A. Bacterial xanthan and rhamnolipid simultaneous production using industrial oil produced water. **Environmental Technology**, v. 43, n. 7, 983–990, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1812729>. Acesso em: 20 mar. 2024

RANA, M. S.; PRAJAPATI, S. K. Stimulating effects of glycerol on the growth, phycoremediation and biofuel potential of *Chlorella pyrenoidosa* cultivated in wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102082, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102082>. Acesso em: 2 ago. 2024.

RANJBAR, S. *et al.* Algae-based treatment of hydraulic fracturing produced water: Metal removal and biodiesel production by the halophilic microalgae *Dunaliella salina*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOREMEDIATION AND SUSTAINABLE ENVIRONMENTAL TECHNOLOGIES, 3., 2015. **Proceedings [...]**, Miami, FL, USA. 2015. p. 18-21.

REHM, B. H. A. Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 8, p. 578-592, jun. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2354>. Acesso em: 25 jul. 2024.

REVADAM, R. Como o soro de leite passou de um descarte poluente para uma matéria-prima em produtos caros. **Brasil de Fato**. 17 out 2021. Disponível em: <https://www.brasildefato.com.br/2021/10/17/como-o-soro-de-leite-passou-de-um-descarte-poluente-para-uma-materia-prima-em-produtos-caros>. Acesso em: 7 jul. 2024.

RIPPKA, R. *et al.* Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 1-61, mar. 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00221287-111-1-1>. Acesso em: 7 jul. 2024.

ROMAIDI M. H. *et al.* Lipid production from tapioca wastewater by culture of *Scenedesmus* sp. with simultaneous BOD, COD and nitrogen removal. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1025, p. 012075, maio 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1025/1/012075>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SAFI, C. *et al.* Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265-278, jul. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>. Acesso em: 25 jul. 2024.

SALAH, A. *et al.* Growth performance and biochemical composition of *Scenedesmus* sp. green alga grown on agricultural industries waste (cheese whey). **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 234, n. 12, dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06780-0>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SALAMA, El-Sayed *et al.* Biomass, lipid content, and fatty acid composition of freshwater *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* grown under salt stress. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 36, n. 6, p. 827-833, fev. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-013-0919-1>. Acesso em: 6 ago. 2024.

SALATI, S. *et al.* Mixotrophic cultivation of *Chlorella* for local protein production using agro-food by-products. **Bioresource Technology**, v. 230, p. 82-89, abr. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.030>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SAMAL, K.; KAR, S.; TRIVEDI, S. Ecological floating bed (EFB) for decontamination of polluted water bodies: design, mechanism and performance. **Journal of Environmental Management**, v. 251, p. 109550, dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109550>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SÁNCHEZ-ZURANO, A. *et al.* Assessment of the mixotrophic production of *Chlorella vulgaris* using milk whey as a nutrient source. **Journal of Applied Phycology**, v. 36, n. 1, p. 87-100, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03142-5>. Acesso em: 18 jul. 2024.

SANFENG, C.; YUNZHI, Z. **Method for improving biomass of chlorella in swine wastewater**. Depositante: China Agricultural University. CN 105985917. Depósito: 06 fev. 2015. Concessão: 13 dez. 2019.

SANGYOKA, S.; POOMIPUK, N.; REUNGSANG, A. Optimum conditions for the production of polyhydroxybutyrate from cassava wastewater by the newly isolated *Cupriavidus* sp. KKU38 (Keadaan Optimum untuk Penghasilan Polihidroksibutrat daripada Air Buangan Cassava menggunakan Isolat Baru *Cupriavidus* sp. KKU. **Sains Malaysiana**, v. 41, n. 10, p. 1211–1216, 2012.

SANTOS, E. F. *et al.* Anaerobic codigestion of manipueira with bovine manure for biogas and biofertilizer production. *In*: GRAJALES AGUDELO, L. M.; SALDES SERRA, J. C.; COLLICCHIO, E. (ed). **Agroenergy: renewable and sustainable energy**. Cambridge: Elsevier, 2024. p. 201-211.

SANTOS, G. K. S. **Isolamento de fungos filamentosos em sistema aberto de tratamento do soro do leite por microalgas**. 2023. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2023. Disponível em: <https://www.repositorio.ufal.br/handle/riufal/6766>

SANTOS, M. C. B. *et al.* Microalgae biomass production for biofuels in brazilian scenario: a critical review. **BioEnergy Research**, v. 14, n. 1, p. 23–42, 5 mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10180-1>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SCARLAT, N. *et al.* The role of biomass and bioenergy in a future bioeconomy: Policies and facts. **Environmental Development**, v. 15, p. 3-34, jul. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2015.03.006>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SCHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Blucher, 2001.

SCHNURR, P. J.; ESPIE, G. S.; ALLEN, G. D. The effect of photon flux density on algal biofilm growth and internal fatty acid concentrations. **Algal Research**, v. 16, p. 349-356, jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.001>. Acesso em: 24 out. 2023.

SEKAR, M.; SELIM, M.; YE; ELGENDI, M. Improving the performance of a diesel engine using nanomaterials and chlorella vulgaris microalgae blends assisted with biogas. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 49, p. 496-506, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.09.171>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SEOK-GU, S. **System and method for eliminating radioactive materials from contaminated water using algae**. KR101556655B1-2015. Depósito: 03 dez. 2013. Concessão: 02 out. 2015.

SEREJO, M. L. **Cultivo de microalgas com vinhaça digerida anaerobiamente**. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Ambientais) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul- Campo Grande, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/bitstream/123456789/2218/1/Mayara%20Leite%20Serejo.pdf>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SEVERO, I. H. *et al.* Disruptive potential of microalgae proteins: Shaping the future of the food industry. **Future Foods**, v. 9, p. 100318, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100318>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SHANKAR, P. D. *et al.* A review on the biosynthesis of metallic nanoparticles (gold and silver) using bio-components of microalgae: pormation mechanism and applications. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 95, p. 28-44, dez. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enzmitec.2016.10.015>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SHETTY, P.; GITAU, M. M.; MARÓTI, G. Salinity stress responses and adaptation mechanisms in eukaryotic green microalgae. **Cells**, v. 8, n. 12, p. 1657, 17 dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cells8121657>. Acesso em: 21 jul. 2024.

SIDDIKI, S. Y. A. *et al.* Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: an integrated biorefinery concept. **Fuel**, v. 307, p. 121782, sep. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SILVA, D. A. *et al.* Strategy for the cultivation of Chlorella vulgaris with high biomass production and biofuel potential in wastewater from the oil industry. **Environmental Technology & Innovation**, v. 25, p. 102204, fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.102204>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SILVA, J. S. J. *et al.* Luminosity and chemical stress improve the production of biomass and biomolecules from chlorella vulgaris cultivated in produced water. **BioEnergy Research**, v. 16, n. 4, p. 2465-2478, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2139/ssrn.4103924>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SILVA, J. S. J. **Manipulação do cultivo de Chlorella vulgaris em água residual da extração de petróleo: produção de biomassa e biomoléculas**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021.

- SILVA, M. B. F. *et al.* Influence of culture conditions on the production of extracellular polymeric substances (EPS) by *Arthrospira platensis*. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 7, n. 1, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40643-020-00337-3>. Acesso em: 5 ago. 2024.
- SILVA, T. L. *et al.* The role of heterotrophic microalgae in waste conversion to biofuels and bioproducts. **Processes**, v. 9, n. 7, p. 1090, jun. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pr9071090>. Acesso em: 7 jul. 2024.
- SINGH, A. K. *et al.* Microalgal biorefinery as a sustainable and cost-effective platform for co-production of high-value-added products/metabolites: an insight into emerging trends, challenges, and opportunities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 58, 103192, jun. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103192>. Acesso em: 25 jul. 2024.
- SINGH, D. *et al.* Omics (genomics, proteomics, metabolomics, etc.) tools to study the environmental microbiome and bioremediation. In: KASHYAP, B. K. *et al.* (ed.). **Waste to energy: prospects and applications**. Singapore: Springer Singapore, 2020. p. 235-260. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-33-4347-4_10. Acesso em: 12 out. 2023.
- SINNAEVE, D. The Stejskal-Tanner equation generalized for any gradient shape-an overview of most pulse sequences measuring free diffusion. **Concepts in Magnetic Resonance Part A**, v. 40A, n. 2, p. 39-65, mar. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cmr.a.21223>. Acesso em: 18 jul. 2024.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. *et al.* Comparison of photoautotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae *Messastrum gracile* (Chlorophyceae) in alternative culture media. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 4, p. 914-920, dez. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.226548>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- SNYDER, D. A. *et al.* Non-negative matrix factorization of two-dimensional NMR spectra: application to complex mixture analysis. **The Journal of Chemical Physics**, v. 128, n. 5, p. 052313, fev. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1063/1.2816782>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- SOUZA, G. S; LUPORINI, S.; RIGOLI, I. C. Caracterização reológica de suspensões argilosas salinas com goma xantana para fluidos de perfuração de poços de petróleo. **Matéria**, Rio de Janeiro, v. 22, 2017.
- SU, Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment. **Science of The Total Environment**, v. 762, p. 144590, mar. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144590>. Acesso em: 2 ago. 2024.
- SULLIVAN GRAHAM, E. J. *et al.* Oil and gas produced water as a growth medium for microalgae cultivation: A review and feasibility analysis. **Algal Research**, v. 24, p. 492-504, jun. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.01.009>. Acesso em: 21 jul. 2024.

SUN, F.; HUANG, Q.; WU, J. Rheological behaviors of an exopolysaccharide from fermentation medium of a *Cordyceps sinensis* fungus (Cs-HK1). **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 506-513, dez. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.055>. Acesso em: 2 ago. 2024.

SURESH KUMAR, K. *et al.* Microalgae – a promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 329-352, mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.019>. Acesso em: 21 jul. 2024.

SUWAL, S. *et al.* Evidence of the production of galactooligosaccharide from whey permeate by the microalgae *Tetradismus obliquus*. **Algal Research**, v. 39, 101470, maio 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101470>. Acesso em: 25 jul. 2024.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. Chemometrics II: spreadsheets for experimental design calculations, a tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200026>. Acesso em: 7 jul. 2024.

THAVORN, J. *et al.* Foresight through strategic technology intelligence for collaboration and innovation pathways. *In: ISPIIM CONFERENCE PROCEEDINGS*, 2020.

THI NGUYEN, M. L.; LIN, C. Y.; LAY, C. H. Microalgae cultivation using biogas and digestate carbon sources. **Biomass and Bioenergy**, v. 122, p. 426-432, mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.050>. Acesso em: 7 jul. 2024.

THOMAS, J. E. **Fundamentos de engenharia de petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, 2001.

TOMAR, R. S.; RAI-KALAL, P.; JAJOO, A. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons on photosynthetic and biochemical functions and its bioremediation by *Chlorella vulgaris*. **Algal Research**, v. 67, p. 102815, set. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102815>. Acesso em: 2 ago. 2024.

TOULIABAH, H. E. S. *et al.* A review of microalgae- and cyanobacteria-based biodegradation of organic pollutants. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 1141, fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27031141>. Acesso em: 25 jul. 2024.

UNITED NATIONS. **International decade for action, on water for sustainable development**, 2018-2028. New York. [2017]. Disponível em: <https://www.un.org/en/events/waterdecade/>. Acesso em: 7 jul. 2024.

UNITED NATIONS. **World population prospects: the 2017 revision**. New York: United Nations, 2017. Disponível em: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2017_KeyFindings.pdf. Acesso em: 8 jul. 2024.

UNITED STATES CONGRESS. **Energy independence and security act. public law**, 2007. v. 110–140, p. 1492–1801.

UNITED STATES. Environmental Protection Agency. Office of Solid Waste and Emergency Response. **Use of bioremediation at Superfund sites**. [Washington, D.C.]: US-EPA, 2001.1

VALE, T. O. **Aplicação do cultivo de microrganismos no desenvolvimento de estratégias biotecnológicas para a indústria de petróleo e gás**. 2021. 124 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde/Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Salvador, 2021.

VASCONCELOS, G. F.; VIDAL, J. W. B. **Poder dos trópicos, meditação sobre a alienação energética na cultura brasileira**. São Paulo: Casa Amarela, 1998.

VIAMONTE-ARISTIZÁBAL, S. *et al.* Synthesis of high molecular weight L-Polylactic acid (PLA) by reactive extrusion at a pilot plant scale: Influence of 1,12-dodecanediol and di(trimethylol propane) as initiators. **European Polymer Journal**, v. 161, p. 110818, dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110818>. Acesso em: 2 ago. 2024.

VO, T. K. Q. *et al.* Influence of salinity on microalgae-bacteria symbiosis treating shrimp farming wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 902, p. 166111, dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166111>. Acesso em: 7 jul. 2024.

WANG, F. *et al.* Combating desertification in China: past, present and future. **Land Use Policy**, v. 31, p. 311-313, mar. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2012.07.010>. Acesso em: 7 jul. 2024.

WANG, Q. *et al.* Insight into the rapid biogranulation for suspended single-cell microalgae harvesting in wastewater treatment systems: focus on the role of extracellular polymeric substances. **Chemical Engineering Journal**, v. 430, p. 132631, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.132631>

WANG, S. *et al.* Integrated microalgal biorefinery – routes, energy, economic and environmental perspectives. **Journal of Cleaner Production**, v. 348, p. 131245, maio 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131245>. Acesso em: 8 jul. 2024.

WANG, S. *et al.* Lignocellulosic biomass pyrolysis mechanism: a state-of-the-art review. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 62, p. 33-86, set. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2017.05.004>. Acesso em: 8 jul. 2024.

WEETMAN, C. **A Circular economy handbook for business and supply chains: repair, remake, redesign, rethink**. London: Kogan Page, 2017.

WENGUANG, Z. *et al.* **Method for processing soy sauce wastewater through microalgae**. Depositante: Nanchang University. CN109626584. Depósito: 29 dez. 2018. Concessão: 16 maio 2019.

WIESBERG, I. L. *et al.* Carbon dioxide utilization in a microalga-based biorefinery: Efficiency of carbon removal and economic performance under carbon taxation. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 988-998, dez. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.005>. Acesso em: 25 jul. 2024.

WILSON, T. V. **Bioreactor using microalgae**. Depositante: Wilson Tristan Victor. PH12017500826. Depósito: 11 jul. 2014. Concessão: 12 maio 2016

WINCKELMANN, D. *et al.* Detection of weed algae in open pond cultures of *Cyanobacterium aponinum* using PAM. **International Aquatic Research**, v. 8, n. 1, p. 81-90, fev. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40071-016-0126-1>. Acesso em: 21 jul. 2024.

WINCKELMANN, D. *et al.* Open pond cultures of indigenous algae grown on non-arable land in an arid desert using wastewater. **International Aquatic Research**, v. 7, n. 3, p. 221-233, jun. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40071-015-0107-9>. Acesso em: 21 jul. 2024.

WONG, J. *et al.* South Korean biotechnology: a rising industrial and scientific powerhouse. **Nature Biotechnology**, v. 22, S12, p. DC42—DC47, dez. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nbt1204supp-dc42>. Acesso em: 8 jul. 2024.

WONG, P. K. **Academic entrepreneurship in Asia: the role and impact of universities in national innovation systems**. Northampton: Edward, Elgar Publishing Limited, 2011.

WOOD, J. L. *et al.* Biomass and phycocyanin production from cyanobacteria dominated biofilm reactors cultured using oilfield and natural gas extraction produced water. **Algal Research**, v. 11, p. 165-168, set. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.06.015>. Acesso em: 21 jul. 2024.

WU, B. *et al.* Biofilm bioactivity affects nitrogen metabolism in a push-flow microalgae-bacteria biofilm reactor during aeration-free greywater treatment. **Water Research**, v. 244, p. 120461, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120461>

WU, D. H.; CHEN, A. D.; JOHNSON, C. S. An improved diffusion-ordered spectroscopy experiment incorporating bipolar-gradient pulses. **Journal of Magnetic Resonance, Series A**, v. 115, n. 2, p. 260-264, ago. 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/jmra.1995.1176>. Acesso em: 18 jul. 2024

XIA, S. *et al.* Application of polysaccharide biopolymer in petroleum recovery. **Polymers**, v. 12, n. 9, p. 1860, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym12091860>. Acesso em: 7 jul. 2024.

XIANGYANG, L. **Production device for carrying out purifying treatment on livestock and poultry breeding wastewater by utilizing microalgae**. Depositante: Fuzhou University. CN203474790U. Pedido: 18 set. 2013. Concessão: 12 mar. 2014.

XIAO, R.; ZHENG, Y. Overview of microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their applications. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 7, p. 1225-1244, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.004>. Acesso em: 25 jul. 2024

XIAOJIAN, M. *et al.* **Method for culturing microalgae by using alcohol wastewater and fermentation exhaust**. Depositante: Henan Tianguan Biofuel Engineering Technology Co., Ltd. CN104556566. Depósito: 23 dez. 2014. Concessão: 29 abr. 2015.

XIE, J.; JIN, Y. C. Parameter determination for the cross rheology equation and its application to modeling non-Newtonian flows using the WC-MPS method. **Engineering**

Applications of Computational Fluid Mechanics, v. 10, n. 1, p. 111-129, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19942060.2015.1104267>. Acesso em: 25 jul. 2024.

XU, K.; ZHANG, S. Trust-region algorithm for the inversion of molecular diffusion NMR data. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 592-599, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac402698h>. Acesso em: 25 jul. 2024.

XU, Q. *et al.* A kinetic study on the effects of alkaline earth and alkali metal compounds for catalytic pyrolysis of microalgae using thermogravimetry. **Applied Thermal Engineering**, v. 73, n. 1, p. 357-361, dez. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2014.07.068>. Acesso em: 7 jul. 2024.

XUYA, Y. *et al.* **Method for reducing total nitrogen, total phosphorus and COD in low-molasses alcohol waste mash**. Depositante: Kunming University of Science and Technology. CN109337816. Depósito: 29 set. 2018. Concessão: 15 fev. 2019.

YADAV, S. *et al.* Green synthesis of silver nano-particle from cyanobacteria and effect on microalgal growth and production of exopolysaccharide (EPS). *In: YADAV, S. et al. Cyanobacteria - recent advances and new perspectives [Working Title]. [S. l.]: IntechOpen, 2022.* Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.106039>. Acesso em: 2 ago. 2024.

YANG, X. *et al.* An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. **Trends in Food Science & Technology**, v. 102, p. 1-15, ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.020>. Acesso em: 2 ago. 2024.

YANG, Z.-Y. *et al.* Efficient microalgal lipid production driven by salt stress and phytohormones synergistically. **Bioresource Technology**, v. 367, p. 128270, jan. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128270>. Acesso em: 6 ago. 2024.

YANGYANG, Q. **Method for culturing microalgae with starch wastewater**. Depositante: Guangxi Naming Rongweide New Energy Tech Co Ltd. CN107629962A Depósito: 15 nov. 2017. Concessão: 26 jan. 2018.

YELLAPU, S. K. *et al.* Oleaginous yeast biomass flocculation using bioflocculant produced in wastewater sludge and transesterification using petroleum diesel as a co-solvent. **Renewable Energy**, v. 131, p. 217-228, fev. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.066>. Acesso em: 8 jul. 2024

YU, K. L. *et al.* Microalgae from wastewater treatment to biochar – feedstock preparation and conversion technologies. **Energy Conversion and Management**, v. 150, p. 1-13, out. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.07.060>. Acesso em: 8 jul. 2024.

YUAN, B. *et al.* Reconstructing diffusion ordered NMR spectroscopy by simultaneous inversion of Laplace transform. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 278, p. 1-7, maio 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2017.03.004>. Acesso em: 25 jul. 2024.

YUN, S.; LEE, J. An innovation network analysis of science clusters in South Korea and Taiwan. **Asian Journal of Technology Innovation**, v. 21, n. 2, p. 277-289, dez. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19761597.2013.866310>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ZEBEBON, O; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (coord.) **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 7 jul. 2024.

ZHANG, J.; LIU, L. CHEN, F. Production and characterization of exopolysaccharides from *Chlorella zofingiensis* and *Chlorella vulgaris* with anti-colorectal cancer activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 134, p. 976-983, ago. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.117>. Acesso em: 6 ago. 2024.

ZHANG, L. *et al.* Cultivation of microalgae using anaerobically digested effluent from kitchen waste as a nutrient source for biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 115, p. 276-287, jan. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.08.034>. Acesso em: 7 jul. 2024.

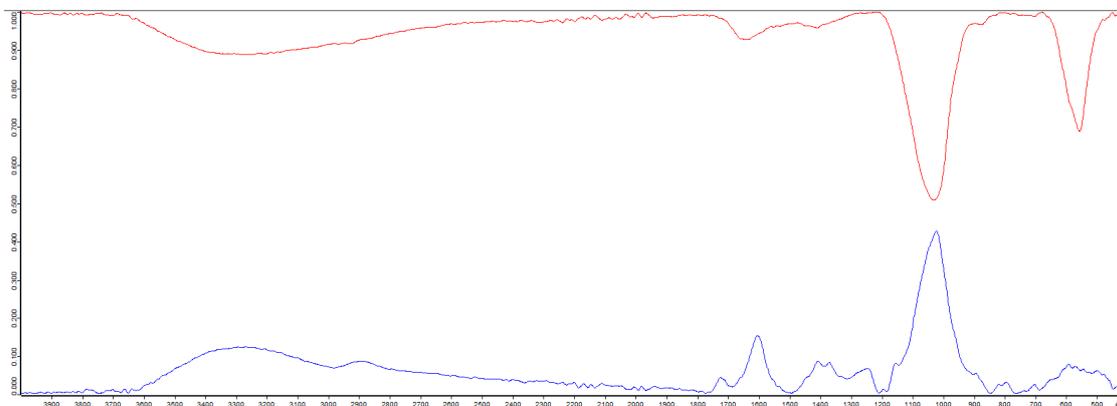
ZHAO, D. *et al.* Symbiosis of microalgae and bacteria consortium for heavy metal remediation in wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 109943, abr. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109943>. Acesso em: 22 out. 2023.

ZHAO, Z.; YAN, H. Assessment of the biomass power generation industry in China. **Renewable Energy**, v. 37, n. 1, p. 53-60, jan. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.05.017>. Acesso em: 22 jul. 2024.

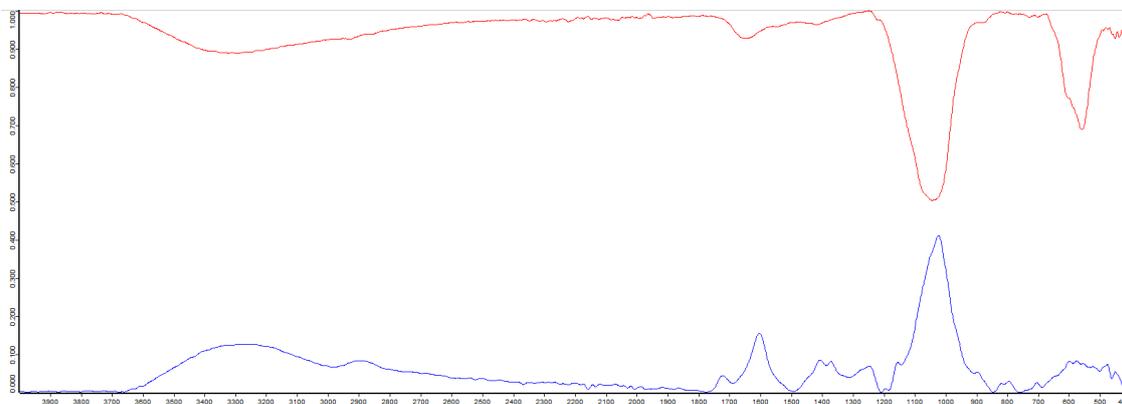
ZHIWU, C. **Method for producing feed additive from livestock and poultry breeding wastewater and purifying breeding wastewater to reclaimed water**. Depositante: Jiaxing Daqi Biological Energy Co., Ltd. CN 102161550. Depósito: 13 jan. 2011. Concessão: 21 nov. 2014.

ZHOU, Y. *et al.* Microalgal extracellular polymeric substances (EPS) and their roles in cultivation, biomass harvesting, and bioproducts extraction. **Bioresource Technology**, v. 406, 131054, ago. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131054>. Acesso em: 18 jul. 2024.

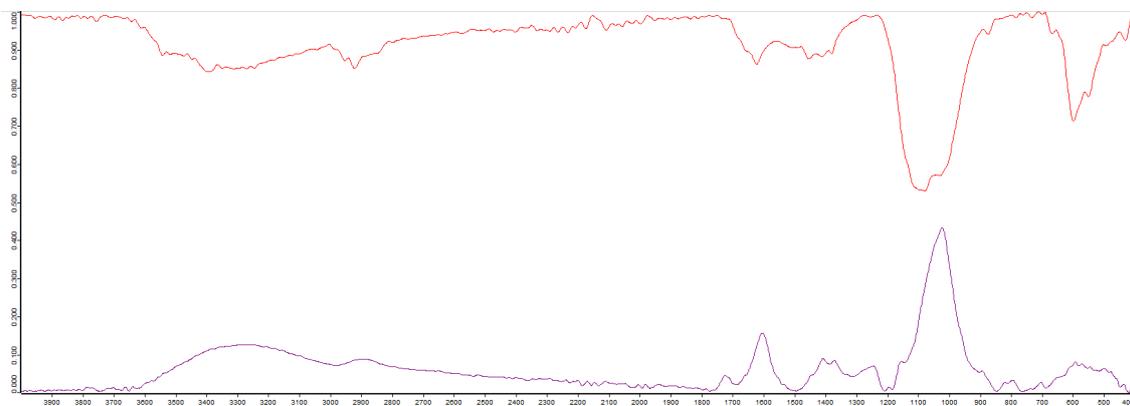
APÊNDICE A – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CC não liofilizada (vermelho) e CXG não liofilizada (67,3% de ajuste, azul)



APÊNDICE B – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CC liofilizada (vermelho) e CXG liofilizada (65,8% de ajuste, azul)



APÊNDICE C – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CS não liofilizada (vermelho) e CXG não liofilizada (74,7% de ajuste, roxo)



APÊNDICE D – Espectros FTIR-IR da amostra de EPS-CS liofilizada (vermelho) e CXG liofilizada (82,7% de ajuste, azul)

