UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia de Fermentações

**Reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis*
tratados com carvão ativado em pó e diferentes agentes coagulantes**

Lauris del Carmen Mejia da Silva

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho

São Paulo
2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia de Fermentações

**Reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis*
tratados com carvão ativado em pó e diferentes agentes coagulantes**

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890.
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP.

Lauris del Carmen Mejia da Silva

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho

São Paulo
2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

M516r Mejia da Silva, Lauris del Carmen
Reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina)*
platensis tratados com carvão ativado em pó e diferentes agentes
coagulantes / Lauris del Carmen Mejia da Silva. -- São Paulo,
2014.

91p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia
Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Carvalho, João Carlos Monteiro de

1. Microbiologia aplicada 2. Biomassa 3. Adsorção (Tratamento
de água) 4. Floculação com coagulantes primários I. T. II. Carvalho,
João Carlos Monteiro de, orientador.

660.6 CDD

Lauris del Carmen Mejia da Silva

Reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* tratados com
carvão ativado em pó e diferentes agentes coagulantes

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho
orientador/presidente

Profa. Dra. Marina Ishii
1º. examinador

Prof. Dr. André Moreni Lopes
2º. examinador

São Paulo, 11 de novembro de 2014.

*Dedicado a meu esposo Mario e a minha filha Maria Fernanda,
porque vocês são meu suporte para enfrentar os momentos difíceis
e meu incentivo para realizar todos meus sonhos.
Os amo!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter iluminado cada passo dado em minha vida, por abençoar cada escolha e cada conquista.

Ao Prof. Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho, por sua orientação, dedicação e paciência, que contribuiu muito para o meu desenvolvimento acadêmico e profissional.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Aos meus pais Martin e Amilis, pela educação e apoio incondicional em todos meus projetos de vida.

Ao meu esposo Lucimario, pelo incentivo, confiança, amor e companheirismo para a realização deste trabalho.

A meus irmãos Jahidyt e Iver, em especial a minhas sobrinhas Laura, Lianis, Isabel Sofia e Maria Angel, grandes incentivadores em minha caminhada acadêmica e profissional.

A minha amiga Massiel, pela amizade e por sua disposição em ajudar sempre, mesmo estando longe.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Tecnologia de Fermentações, em especial a Lina, Johanna, Fabíola, Eleane e Marcelo, não só pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho, mas também pelo carinho, companheirismo e também pela amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, que tiveram um importante papel na minha formação. Aos professores Marina, Ricardo e Fernando, pelas valiosas sugestões na avaliação do trabalho de qualificação. E as secretarias Miriam e Elza, pela disposição em ajudar sempre.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram com o sucesso deste trabalho.

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho”.

Dalai Lama

RESUMO

MEJIA, L. C. **Reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* tratados com carvão ativado em pó e diferentes agentes coagulantes.** 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A cianobactéria *Arthrospira (Spirulina) platensis*, é um dos micro-organismos fotossintetizantes mais estudados e cultivados, e atualmente tem sido utilizado para a produção de biomassa, com elevado conteúdo de proteínas, vitaminas, minerais, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos, com potencial uso como complemento alimentar para humanos, bem como em alimentação de animais. No entanto, o cultivo de micro-organismos fotossintetizantes tem uma demanda hídrica bastante alta. Dessa forma, é importante a realização de trabalhos que avaliem a possibilidade de reuso de meio de cultivo de *Arthrospira*, que, além de reduzir os custos com nutrientes, contemplam o aspecto ambiental, evitando salinização do solo e eutrofização de corpos hídricos. Este trabalho avaliou a reutilização de meios do cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* tratados com carvão ativado em pó e diferentes agentes coagulantes. Os efluentes foram obtidos dos cultivos de *A. platensis* com nitrato de sódio como fonte de nitrogênio em processo descontínuo, em minitanques. Os efluentes passaram por tratamentos físico-químicos com diferentes concentrações de carvão ativado em pó (30, 40 e 50 mg.L⁻¹) e cloreto férrico (6, 10 e 14 mg.L⁻¹) ou sulfato férrico (15, 25 e 35 mg.L⁻¹) para serem reaproveitados em cultivos desse micro-organismo. O reuso de meio no cultivo de *A. platensis* mostrou resultados aceitáveis, observando-se que o crescimento desta cianobactéria foi satisfatório, com obtenção de concentração celular máxima (X_m) obtida de 1093 mg.L⁻¹ em frasco Erlenmeyer, correspondente ao ensaio com meio tratado com 30 mg.L⁻¹ de carvão ativado em pó (CAP) e 6 mg.L⁻¹ de cloreto férrico. Esses resultados de crescimento celular foram da mesma ordem de grandeza que os resultados de X_m obtidos com meio novo e maiores que aqueles oriundos de crescimentos em meios tratados com sulfato férrico como agente coagulante, cujos valores de concentração celulares máximas não excederam 806 mg.L⁻¹. Os cultivos em meios provenientes de tratamento com cloreto férrico não alteraram a composição da biomassa, chegando a valores de teor protéico da ordem de 47%. Conclui-se que o reuso de meio pode ser viável para a produção de biomassa de *A. platensis*, reduzindo o custo de produção pelo reuso dos nutrientes.

Palavras-chaves: *Arthrospira (Spirulina) platensis*, biomassa microbiana, meio de cultivo, efluentes, carvão ativado em pó, agentes coagulantes.

ABSTRACT

MEJIA, L. C. **Reuse of exhausted medium from *Arthrospira (Spirulina) platensis* after treatment with powdered activated carbon and different coagulants.** 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*, one of the most studied and cultivated photosynthetic microorganisms and, currently has been used for biomass production of biomass, with high contents of protein, vitamins, minerals, amino acids, polyunsaturated fatty acids, and pigments, with potential use as a dietary supplement for human food supplement and animal feed. However, the cultivation of photosynthetic microorganisms have a very high water demand. Thus, is important to carry out studies evaluating the possibility of reuse of *Arthrospira* culture medium, which, in addition to reducing the costs of nutrients, include the environmental aspect, preventing soil salinization and eutrophication of water bodies. This work has evaluated the reuse of effluent medium from *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultivation treated with powdered activated carbon and different coagulants. The effluent, obtained from *A. platensis* batch cultivation in bench-scale open ponds, using sodium nitrate as a nitrogen source. The effluent went through physico-chemical treatments employing different concentrations of powdered activated carbon (30, 40, and 50 mg.L⁻¹) and ferric chloride (6, 10, and 14 mg.L⁻¹) or ferric sulphate (15, 25, and 35 mg.L⁻¹) for them to be reused in cultured microorganism. The reuse through the cultivation of *A. platensis* showed acceptable results, observing that the growth of this cyanobacterium was satisfactory, obtaining maximum cell concentration (X_m) obtained 1093 mg.L⁻¹ in Erlenmeyer flask, corresponding to the assay medium treated with 30 mg.L⁻¹ of powdered activated carbon (PAC) and 6 mg.L⁻¹ ferric chloride. The results of cell growth were the same order of magnitude as the results of X_m obtained with new culture medium and larger than those from growth in media treated with ferric sulfate as a coagulant agent, whose maximum values of cell concentration did not exceed 806 mg.L⁻¹. The cultures in media from treatment with ferric chloride did not alter the composition of the biomass, reaching values of protein content of around 47%. It is concluded that the reuse of cultures medium may be feasible to produce biomass of *A. platensis*, reducing the production cost by recycling of nutrients.

Key-words: *Arthrospira (Spirulina) platensis*, microbial biomass, culture medium, effluent, powdered activated carbon, coagulant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Arthrospira sp.</i> cepa UTEX LB #2179.	23
Figura 2	Ciclo de vida de <i>Arthrospira platensis</i> .	24
Figura 3	Representação esquemática da assimilação do bicarbonato por <i>Arthrospira sp.</i>	27
Figura 4	Representação esquemática da assimilação de nitrogênio em cianobactérias.	28
Figura 5	Representação esquemática do processo de coagulação.	34
Figura 6	Desenho esquemático do tamanho de poros em partículas de carvão ativado e sua correlação com o método de medida (índices de melaço, azul de metileno e iodo).	39
Figura 7	Esquema de possíveis pontos de aplicação do CAP em ETAs convencionais.	40
Figura 8	<i>Arthrospira platensis</i> . cepa UTEX LB #1926.	41
Figura 9	Cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> em minitânque.	43
Figura 10	Cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> em frascos Erlenmeyer.	51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Curva de calibração para determinação da concentração celular de <i>Arthrospira platensis</i> .	55
Gráfico 2	Concentração celular (X) e valor de pH em função do tempo (dias) obtidos do cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> em minitanque, por processo descontínuo, com meio Schlösser com nitrato de sódio.	55
Gráfico 3	Conteúdo de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas da biomassa seca obtidos dos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> , realizados por processo descontínuo em minitanque, usando meio Schlösser com nitrato de sódio.	56
Gráfico 4	Concentrações celulares (mg.L^{-1}) em função do tempo (dias) nos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> , realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratados com CAP e o agente coagulante cloreto férrico (Ensaio E ₁ a E ₉ , Tabela 7), suplementados com nitrato de sódio, bem como ensaio com meio de Schlösser (Ct) (meio novo).	69
Gráfico 5	Concentrações celulares (mg.L^{-1}) em função do tempo (dias) nos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> , realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meio tratado com CAP e o agente coagulante sulfato férrico (Ensaio E ₁₀ a E ₁₈ , Tabela 7), suplementados com nitrato de sódio, bem como ensaio com meio de Schlösser (Ct) (meio novo).	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação taxonômica de <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> .	22
Tabela 2	Usos e aplicações de <i>Arthrospira platensis</i> .	31
Tabela 3	Propriedades físicas e químicas do cloreto férrico.	37
Tabela 4	Propriedades físicas e químicas do sulfato férrico.	38
Tabela 5	Classificação dos poros do carvão ativado.	42
Tabela 6	Composição do meio padrão de Schlösser.	48
Tabela 7	Ensaio e condições experimentais dos tratamentos do efluente usando carvão ativado em pó (CAP) e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico.	59
Tabela 8	Resultados referentes à caracterização físico-química dos efluentes, antes e após do tratamento com carvão ativado em pó (CAP) e cloreto férrico (FeCl_3).	60
Tabela 9	Resultados referentes à caracterização físico-química do efluente, antes e após do tratamento com carvão ativado em pó (CAP) e sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$).	63
Tabela 10	Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com carvão ativado em pó (CAP) utilizando três diferentes concentrações (30, 40 e 50 mg.L^{-1})	64
Tabela 11	Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com o agente coagulante cloreto férrico (FeCl_3) utilizando três diferentes concentrações 6, 10 e 14 mg.L^{-1} .	67
Tabela 12	Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com o agente coagulante sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) utilizando três diferentes concentrações 15, 25 e 35 mg.L^{-1} .	70
Tabela 13	Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por ANOVA para os efluentes, em três diferentes ensaios (efluente sem tratamento, EST; efluentes tratados com cloreto férrico ETC; efluentes tratados com sulfato férrico, ETS).	
Tabela 14	Concentração celular máxima (X_m), produtividade em células (P_X) e valor de pH	

final, obtidos dos *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratado com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico, suplementados com nitrato de sódio, bem como experimentos com meio de Schlösser (Ct).

Tabela 15	Conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, obtidos da biomassa seca de <i>Arthrospira platensis</i> , realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meio tratados com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico, suplementados com nitrato de sódio, bem como experimentos com meio de Schlösser (Ct).	71
Tabela 16	Concentração de nitrato, fosfato e carbonato residual obtidos dos cultivos de <i>Arthrospira platensis</i> , realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meio tratados com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico e suplementados com nitrato de sódio.	73
Tabela 17	Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular, referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_X ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com o agente coagulante cloreto férrico ($FeCl_3$) utilizando três diferentes concentrações 6, 10 e 14 $mg.L^{-1}$.	75
Tabela 18	Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular, referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_X ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com o agente coagulante sulfato férrico ($Fe_2(SO_4)_3$) utilizando três diferentes concentrações 15, 25 e 35 $mg.L^{-1}$.	75
Tabela 19	Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular, referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_X ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por ANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados em três diferentes ensaios (efluentes tratados com cloreto férrico, ETC; efluentes tratados com sulfato férrico, ETS e controle).	77
Tabela 20	Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular, referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_X ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com carvão ativado em pó (CAP) utilizando três diferentes concentrações 30, 40 e 50 $mg.L^{-1}$.	78

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

A ₂₅₄	Absorbância a 254 λ
A ₄₄₀	Absorbância a 440 λ
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
APHA	<i>American Public Health Association</i>
CAG	Carvão ativado granulado
CAP	Carvão ativado em pó
EST	Efluente sem tratamento
ETAs	Estações de Tratamento de Águas
ETC	Efluentes tratados com cloreto férrico
ETS	Efluentes tratados com sulfato férrico
IAM	Índice de azul de metileno
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
MC-LR	Toxina microcistina-LR
MIB	Metilisoborneol
MON	Matéria orgânica natural
N/A	Não aplicável
NBR	Norma Brasileira
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NI	Número de iodo
°C	Graus Celsius
pH	Potencial Hidrogeniônico
P _x	Produtividade em célula (unidade: mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)
UTEX	University of Texas
X	Concentração celular (unidade: mg.L ⁻¹)
X _m	Concentração celular máxima (unidade: mg.L ⁻¹)

SUMÁRIO

	Pag.
1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.1. Objetivos específicos	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1. Cianobactéria: <i>Arthrospira platensis</i>	21
3.1.1. Historia e produção comercial	21
3.1.2. Taxonomia e morfologia	22
3.1.3. Composição química	24
3.1.3.1. Proteínas	24
3.1.3.2. Carboidratos	25
3.1.3.3. Lipídios	25
3.1.3.4. Vitaminas e pigmentos	25
3.1.3.5. Minerais	26
3.1.3.6. Ácidos nucleicos	26
3.1.4. Condições de cultivo	26
3.1.4.1. Fonte de Carbono	26
3.1.4.2. Fonte de Nitrogênio	27
3.1.4.3. Outros nutrientes	28
3.1.4.4. Luz	28
3.1.4.5. pH	29
3.1.4.6. Temperatura	29
3.1.4.7. Agitação	30
3.1.5. Biorreatores	30
3.1.6. Processo descontínuo	30
3.1.7. Usos e Aplicações	31
3.2. Tecnologias de tratamento de efluentes	32
3.2.1. Coagulação	33
3.2.1.1. Mecanismos da coagulação	34
3.2.1.2. Agentes coagulantes	35

3.2.2.	Adsorção com carvão ativado	37
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1.	Cultivos de <i>A. platensis</i> para obtenção dos efluentes a serem tratados	41
4.1.1.	Micro-organismo e manutenção	41
4.1.2.	Meio para cultivo de <i>Arthrospira platensis</i>	41
4.1.3.	Preparo do inóculo	42
4.1.4.	Dispositivo para cultura	43
4.1.5.	Descrição do ensaio	43
4.1.6.	Técnicas Analíticas para acompanhamento dos cultivos	44
4.1.6.1.	Determinação do pH	44
4.1.6.2.	Determinação da concentração celular	44
4.1.6.3.	Determinação de nitrato	45
4.1.6.4.	Determinação de carbonato	45
4.1.7.	Avaliação da biomassa seca	45
4.1.7.1.	Lipídios totais	45
4.1.7.2.	Proteínas totais	46
4.1.7.3.	Cinzas totais	46
4.1.7.4.	Carboidratos	46
4.2.	Tratamento do efluente obtido no cultivo de <i>A. platensis</i>	47
4.2.1.	Tratamento do efluente	47
4.2.2.	Planejamento experimental	47
4.2.3.	Caracterização físico-química do efluente	48
4.2.3.1.	Determinação do pH	49
4.2.3.2.	Determinação de nitrato	49
4.2.3.3.	Determinação de carbonato	49
4.2.3.4.	Determinação de fosfato	49
4.2.3.5.	Remoção de absorbância nos meios tratados	49
4.3.	Cultivos de <i>A. platensis</i> nos meios tratados	50
4.3.1.	Micro-organismo	50
4.3.2.	Preparo do inóculo	50
4.3.3.	Dispositivo e meios para o cultivo de <i>A. platensis</i>	50
4.3.4.	Técnicas analíticas para acompanhamento dos cultivos	51

4.3.4.1.	Determinação da concentração celular e pH	51
4.3.4.2.	Determinação de nitrato, carbonato e fosfato	51
4.3.5.	Avaliação da biomassa seca	51
4.4.	Análise dos resultados	52
4.4.1.	Calculo dos parâmetros	52
4.4.2.	Análise estatística	53
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1.	Cultivos de <i>A. platensis</i> em minitanques para obtenção dos efluentes	54
5.2.	Caracterização físico-química dos efluentes	58
5.3.	Cultivos de <i>A. platensis</i> nos meios tratados	68
6.	CONCLUSÕES	79
7.	REFERÊNCIAS	81

1. INTRODUÇÃO

Arthrospira platensis (também conhecida como *Spirulina platensis*) é uma cianobactéria pertencente ao grupo *Oscillatoriaceae* de acordo com *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Trata-se de micro-organismo fotossintetizante e unicelular, que se agrupa formando tricomas cilíndricos multicelulares ou formas filamentosas espiraladas (HOEK, 1995). Este micro-organismo cresce de forma natural em numerosos lugares, especialmente em corpos d'água pouco profundos e sob a presença de bicarbonato de sódio e salinidade elevada (VONSHAK; TOMASELLI, 2000). *A. platensis* pode ser cultivada em fotobiorreatores abertos ou fechados, com luz artificial ou natural, empregando meios essencialmente inorgânicos, em que os constituintes principais são as fontes minerais de carbono (carbonatos e bicarbonatos), nitrogênio (amônio, nitrato ou nitrito) e fósforo, em pH alcalino e temperaturas da ordem de 30 °C (VONSHAK, 1997).

Esta cianobactéria é utilizada, principalmente, como suplemento alimentar pelo ser humano e pode ser usada para alimentação animal. Adicionalmente, é de grande interesse comercial nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, pois apresenta em sua composição química proteínas, vitaminas, lipídios, minerais, carboidratos e pigmentos (SANCHEZ *et al.*, 2003). Tacon e Jackson (1985) enumeraram as seguintes vantagens das cianobactérias como fonte proteica alternativa: a) são capazes de utilizar fontes de carbono inorgânico e orgânico; b) possuem em torno de 40-70% de proteína em função da espécie; c) apresentam tempos de geração curtos sob condições ótimas de crescimento; d) são facilmente cultivadas em pequenas áreas; e) permitem possíveis manipulações genéticas para alteração de sua composição.

Na atualidade, existem grandes indústrias produtoras de biomassa de *Arthrospira sp.*, em diversos países ao redor do mundo, como Índia, Cuba, Chile, China e Estados Unidos, principalmente (SANCHEZ *et al.*, 2003). Hoje em dia, a maior empresa produtora está localizada na China, na província de Hainan, e é responsável pela produção anual de 200 toneladas de pó de *Arthrospira*, o que representa 25% produção nacional total e 10% produção mundial. A maior usina do mundo é Earthrise, localizada no deserto de Sonora na Califórnia - EUA e abarca uma área de 440.000 m² (SPOLAORE *et al.*, 2006).

Além das propriedades nutracêuticas de *Arthrospira sp.*, citadas acima, este micro-organismo tem sido usado para a purificação de efluentes industriais e domésticos pelo fato de remover nitratos, fosfatos e outros elementos presentes (VONSHAK, 1997). A remoção destes compostos por micro-organismos fotossintetizantes evita contaminação e eutrofização da

água, o que resulta em efluentes reutilizáveis de alta qualidade, que podem ser aproveitados para consumo animal e esses tratamentos também contribuem para a potabilização do mesmo (PEDRAZA, 2000). Com a consequente obtenção de valiosa biomassa, que poderia ser utilizada para diferentes fins, por exemplo: suplemento alimentar para animais, biofertilizantes, obtenção de lipídios que podem se convertidos em biocombustíveis ou para a extração de produtos químicos finos, tais como pigmentos, vitaminas e ácidos graxos insaturados (DE PHILIPPIS; VINCENZINI, 1998; CHISTI, 2007).

Em Israel, aproveitam-se as águas das costas para produção das cianobactérias *Arthrospira spp.* e *Scenedesmus spp.*, tentando-se implementar métodos eficientes e menos custosos no tratamento de água de efluentes industriais e domésticos. Em Londres, são usadas as águas do tratamento terciário de rejeitos para produzir biomassa e finalmente, estas águas são purificadas (KOSARIC *et al.*, 1974).

Por outro lado, um método amplamente utilizado no tratamento de água é o carvão ativado, que pode ser de dois tipos: carvão ativado em pó (CAP) e o carvão ativado granulado (CAG). O carvão ativado é uma forma de carbono puro de grande porosidade que apresenta notáveis propriedades atribuídas a sua área superficial, entre elas, a remoção de impurezas dissolvidas em solução. Os usos mais comuns para o carvão ativado são: absorção de gases (na forma de filtros) e no tratamento de águas. No caso de tratamento de efluentes, o carvão é usado para clarificação, desodorização e purificação (MORAVIA, 2007).

Estudos realizados com CAP, para a remoção de cianotoxinas ocorridas por florações de cianobactérias em água de abastecimento público mostraram bons resultados (MÜLLER *et al.*, 2009). Do mesmo modo, o CAP tem sido avaliado no tratamento de águas de abastecimento para a solução de problemas de sabor e odor, a sua aplicação pode ser antes ou depois da mistura rápida ou juntamente com o agente coagulante e, concluiu-se que, para as mesmas dosagens de CAP e agente coagulante aplicadas, independentemente do seu ponto de aplicação, não foram observadas diferenças significativas na remoção de compostos causadores de gosto e odor (MARCHETTO; FERREIRA FILHO, 2005).

Há vários agentes coagulantes que podem ser utilizados para remoção de matéria orgânica de águas residuais, como por exemplo, sulfato de alumínio, sulfato férrico, cloreto férrico, hidróxido de cálcio, quitosana, entre outros. Os sais de alumínio e ferro são os agentes coagulantes mais utilizados no tratamento de água, por serem de baixo custo e terem capacidade coagulante já comprovada. O sulfato ferroso é muito útil para tratar águas com pH elevado, entre 8,5 e 11, o sulfato férrico é conveniente para tratar águas altamente coloridas é efetivo na faixa de pH entre 5,0 a 11,0. De igual maneira, o cloreto férrico produz bons flocos

nessa mesma faixa de pH (VIANNA, 1992). Já o pH utilizado no processo de coagulação com sulfato de alumínio é de 5,0 a 8,0 (CORBITT, 1998), além disso, seu efeito como coagulante é fortemente dependente do pH, e no final do tratamento pode ficar presente uma alta concentração de alumínio residual na água, em consequência do pH de floculação usado (KAWAMURA, 1991). Os coagulantes cloreto férrico, sulfato férrico e sulfato de alumínio são usados em concentrações que variam, dependendo da característica do efluente a serem tratado (SANTOS FILHO, 1985; CHEREMISINOFF, 2002).

Finalmente, cabe dizer que enquanto grandes empresas ao redor do mundo se dedicaram à produção de *Arthrospira sp.* visando atender ao mercado consumidor, centros de pesquisas em todo o mundo têm realizado vários trabalhos que buscaram melhorar as condições de cultivo desta cianobactéria, utilizando diferentes tipos de nutrientes e condições ambientais (NUNES *et al.*, 2003). Apesar disso, foram encontrados poucos trabalhos na literatura que avaliem a possibilidade de reuso de meios no cultivo de micro-organismo fotossintetizante. Em 2006, Jourdan descreve um procedimento para renovar o meio de cultivo considerando que se deve realizar uma limpeza tirando 1 % do meio a cada dia de cultivo. Sugere também, um procedimento para realizar uma depuração realizando combinação de processos de filtração, decantação e tratamento biológico natural, utilizando luz em tanques abertos com tempo de residência entre 2 e 4 semanas para posteriormente ser descartado. Porém, as informações anteriormente mencionadas não oferecem uma explicação claramente definida no uso final do efluente obtido, nem da caracterização do mesmo. Do mesmo modo, Morocho Jacome (2014) estudou as possibilidades de tratamento físico-químicos de efluente obtido no final do cultivo de *A. platensis* usando uréia como fonte de nitrogênio em fotobiorreator tubular para ser reaproveitado esse efluente tratado num novo cultivo desse micro-organismo.

Considerando que a produção de *A. platensis* tem crescido consideravelmente nos últimos anos e, que estes cultivos geram uma quantidade muito grande de meio residual salino, é importante propor uma metodologia para reaproveitamento do meio obtido no final dos cultivos, pretendendo evitar a eutrofização e salinização do solo, bem como a redução de custo de produção (CARVALHO *et al.*, 2010). Adicionalmente, esta técnica permite obter material orgânico reaproveitado, bem como diminuir a necessidade hídrica desse processo. Dentro desse contexto, foi proposto este trabalho com o objetivo de avaliar o reaproveitamento de efluente obtidos do cultivo de *A. platensis*, em novos cultivos do mesmo micro-organismo, após tratamento do meio pela combinação dos processos de coagulação e adsorção.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O principal objetivo desta investigação foi avaliar o reaproveitamento de meios no cultivo de *Arthrospira platensis*, obtido de cultivos prévios após um processo descontínuo em minitanques usando meio Schlösser, e tratados com carvão ativo e diferentes agentes coagulantes, em distintas condições experimentais, tendo como variáveis resposta os parâmetros da caracterização dos efluentes, parâmetros cinéticos de crescimento e composição de biomassa.

2.2. Objetivos específicos

- Cultivar *A. platensis* em minitanques em processo descontínuo com meio Schlösser com nitrato de sódio como fonte de nitrogênio para a obtenção dos efluentes a serem tratados;
- Realizar tratamentos dos efluentes utilizando carvão ativado em pó (CAP) e o agente coagulante cloreto férrico ou sulfato férrico;
- Avaliar a influência da combinação destas substâncias na remoção de material orgânico de meio residual de *A. platensis*;
- Analisar os parâmetros cinéticos e a composição de *A. platensis* cultivada nos efluentes tratados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cianobactéria: *Arthrospira platensis*

3.1.1. História e produção comercial

Por volta do ano de 1520, durante a colonização espanhola, em Tenochtitlán (atual cidade do México), na superfície do lago Texcoco crescia um tipo de micro-organismo de coloração verde - hoje denominado *Spirulina* - que era consumido pelos Astecas na forma seca. Esta cianobactéria era recolhida do lago com auxílio de uma malha de tecido, seca ao sol sobre pedras, e vendida nos mercados da cidade com o nome de “tecuitlatl” (LACAZ-RUIZ, 2003).

No México, os Astecas consumiam *Spirulina* como um dos principais alimentos protéicos de sua dieta. Na África Central, a tribo Kanembu, que vivia nas margens do Lago Chade, também utilizaram *Arthrospira* como alimento. Esta cianobactéria era obtida naturalmente em águas quentes e alcalinas, e, de forma semelhante ao México, as células eram retiradas dos lagos, estendidas sobre pedras e secas ao sol. Assim, era obtido o alimento denominado “Dihe”, matéria seca de *Spirulina* em forma de biscoitos (PANIAGUA-MICHEL *et al.*, 1993). A *Spirulina maxima* era certamente o mais abundante ou único componente do fitoplâncton do Lago Texcoco e a *Spirulina platensis* mais abundante no Lago Chade (CIFERRI; TIBONI, 1985). Trabalho recente indica a presença de *A. platensis* em lagoas que aprestam altas concentrações de sais, principalmente sódio e potássio, e valores de pH variando de 8,0 a 10,5 no Pantanal da Nhecolândia, sub-região do Complexo do Pantanal brasileiro (MALONE *et al.*, 2008).

A produção comercial de microalgas em larga escala iniciou na década de 60 com cultivos de *Chlorella*, no Japão. Cultivos de *Spirulina* foram desenvolvidos no México, cerca de uma década depois; por volta de 1972, foi construída a planta industrial Sosa Texcoco, que produzia *Spirulina maxima*. A cianobactéria era facilmente coletada e cultivada no Lago Texcoco onde crescia naturalmente (SPOLAORE *et al.*, 2006).

Recentemente, a produção de biomassa de cianobactérias no mercado tem sido de aproximadamente 5000 toneladas de matéria seca por ano, o que movimenta mais de um bilhão de dólares (PULZ; GROSS, 2004). A *Arthrospira* é produzida em grandes quantidades na Índia e na China. Neste último país, está localizada uma das maiores empresas produtoras

desta cianobactéria, na província de Hainan; a qual tem capacidade de produzir, anualmente, 200 toneladas de pó de *Arthrospira*. Entretanto, sabe-se que a maior planta de produção deste micro-organismo é a Fazenda Earthrise (Califórnia - EUA) que distribui seus produtos para até 20 países no mundo (SPOLAORE *et al.*, 2006).

A tecnologia de cultivo e alta qualidade e quantidade de proteínas bem como ausência de efeitos tóxicos favorecem a produção desta cianobactéria em larga escala (LI *et al.*, 2003). Além disso, esta possui a vantagem de ser recolhida do meio de cultivo mais facilmente por apresentar morfologia filamentosa (PIORRECK *et al.*, 1984), o que diminui o custo de produção quando comparada a cultivos de *Chlorella sp.*

3.1.2. Taxonomia e morfologia

Arthrospira platensis é um micro-organismo fotossintetizante pertencente à família Oscillatoriaceae, de acordo à classificação taxonômica apresentada na Tabela 1, e compreende o grupo das cianobactérias filamentosas. Segundo Tomaselli (1997), essa espécie foi desconsiderada como membro do gênero *Spirulina* reclassificada sob o nome de *Arthrospira*, e aceita oficialmente em Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (CASTENHOLZ, 1989). No entanto, o termo *Spirulina* é mais comumente empregado na literatura.

Tabela 1. Classificação taxonômica de *Arthrospira (Spirulina) platensis*.

Domínio	Procariota
Reino	Bactéria
Filo	Cyanobactéria
Classe	Cyanophyceae
Ordem	Oscillatoriales
Família	Oscillatoriaceae
Gênero	<i>Arthrospira (Spirulina)</i>
Espécie	<i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i>

Fonte: ALGAE BASE (2009), NCBI (2009).

Arthrospira platensis é uma cianobactéria filamentosa e multicelular; suas células cilíndricas formam os tricomas helicoidais (Figura 1) e seus filamentos apresentam mobilidade por deslizamento (CIFERRI, 1983). Esta mobilidade pode ser comprovada pelos hormogônios (forma da *A. platensis* em uma das fases de crescimento, Figura 2) de cianobactérias que ao serem adicionadas no centro de placas de Agar, migram para a região periférica desta após dois ou três dias (RIPPKA *et al.*, 1979). Os tricomas da *A. platensis* apresentam formato de hélice aberta, comprimento de alguns milímetros dependendo da cepa, e largura na faixa de 5 - 12 μm , embora já existam descritas na natureza formas de tamanho menor (3 μm) (CASTENHOLZ, 1989). O citoplasma de espécies de cepas maiores de *Arthrospira* apresenta vacúolos de gases, grânulos e septos bem visíveis.

Figura 1. *Arthrospira sp.* cepa UTEX LB #2179.

Fonte: UTEX, 2014.

O ciclo de vida da *Arthrospira* (Figura 2) envolve a quebra dos tricomas em pedaços que são resultado da lise celular de células especializadas (necrídeos) em intervalos de 4-6 células. Na fase seguinte, uma forma curta e desenrolada é denominada hormogônia e, finalmente, as células de cada hormogônia sofrem divisão celular para a formação de um tricoma espiral.

As cianobactérias podem apresentar uma variedade enorme de formas e tamanhos, entretanto três formas gerais são mais observadas: esférica, bastão e espiral. *A. platensis* apresenta-se na forma de espiral, entretanto pode ser alterada, assim como qualquer outra cianobactéria, dependendo das condições ambientais e adaptações eventuais necessárias à sobrevivência, por exemplo, devido à falta de nutrientes, como carbono, fósforo, nitrogênio e ferro, além da qualidade e cor da luz fornecida (SINGH; MONTGOMERY, 2011).

Figura 2. Ciclo de vida de *Arthrospira platensis*.

Fonte: CIFERRI, 1983.

3.1.3. Composição química

Arthrospira platensis possui um tipo de parede celular característica que permite sua digestibilidade, e seus constituintes são totalmente assimiláveis sem necessidade de um tratamento prévio. Assim, até os compostos mais frágeis, como as vitaminas e os ácidos graxos essenciais, são disponibilizados no organismo em sua forma integral, sem nenhuma degradação, quando do consumo da cianobactéria na forma de suspensão celular. A composição química de *Arthrospira* constitui o fator mais importante na produção desta cianobactéria como potencial fonte de alimento (BELAY, 2002), em especial no que se refere à vitamina B12, pigmentos carotenoides, ferro e ácidos graxos essenciais.

3.1.3.1. Proteínas

Arthrospira apresenta teor de proteínas entre 50 e 70 % da massa seca, considerando-se uma variação neste valor (10 - 15 %) dependendo das condições de cultivo. Estão presentes vários aminoácidos, que representam 47 % do peso total das proteínas (DILLON *et al.*, 1995). Entre eles, oito são estritamente essenciais: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano e valina (COHEN, 1997). Este alto teor de aminoácidos é considerado

excepcional, pois não é encontrado nem nas melhores fontes de proteínas vegetais (PARADA *et al.*, 1998).

3.1.3.2. Carboidratos

Os carboidratos constituem de 15 a 25 % da massa seca de *Arthrospira*. Os açúcares simples, como glicose, frutose e sacarose, estão presentes em quantidades muito pequenas. Estão presentes também os polióis, como glicerol, manitol e sorbitol (BELAY, 2002). A parte essencial assimilável destes compostos está constituída por polímeros como glicogênio.

3.1.3.3. Lipídios

Os lipídeos, por sua vez, constituem aproximadamente 6 a 13 % da massa seca da cianobactéria em questão, podendo às vezes atingir valores acima de 15 % (BELAY, 2002; COHEN, 1997; DILLON *et al.*, 1995). Entre os ácidos graxos, podem ser encontrados ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido linoleico e ácido oléico e, especialmente, o ácido essencial gama linolênico, correspondendo este último a até 30 % de todos os ácidos graxos presentes, representando quase 4 % da massa seca de *Arthrospira*. Por outro lado, Cohen (1993) mostra que diferentes cepas de *Spirulina* apresentam diferentes teores de ácido gama linolênico.

3.1.3.4. Vitaminas e pigmentos

Autores como Gomes-Coronado *et al.* (2004) e Herrero *et al.* (2004) descrevem que *Arthrospira* é um micro-organismo rico em compostos fotoquímicos típicos de vegetais (verdes e amarelos). Dentre os pigmentos presentes, destacam-se a clorofila “a” e o beta-caroteno, sendo encontrados em teores de até 1,5 e 0,4 %, respectivamente (PAOLETTI *et al.*, 1980). e outros antioxidantes (CARERI *et al.*, 2001). Também tem ficoxantina e a criptoxantina, e as ficobilinas, e são quantitativamente os pigmentos dominantes em *Arthrospira sp.* (RICHMOND, 1988), além da clorofila (RANGEL-YAGUI *et al.*, 2004).

Importantes teores das seguintes vitaminas podem ser encontrados na biomassa da referida cianobactéria: tocoferóis (E), filoquinona ou fitomenadiona (K), piridoxina (B₆), tiamina (B₁), riboflavina (B₂) e cianocobalamina (B₁₂).

3.1.3.5. Minerais

Os minerais importantes em *Arthrospira* são: ferro, magnésio, cálcio, fósforo e potássio. Sabe-se que o elevado teor de ferro constitui uma vantagem para seu uso como suplemento alimentar (BELAY, 2002).

3.1.3.6. Ácidos nucleicos

São informadas concentrações de 4 a 6 % de ácidos nucleicos totais na massa seca de *Arthrospira*. Este baixo conteúdo de ácidos nucleicos é bastante inferior a aqueles encontrados na maioria dos micro-organismos produtores de proteína unicelular (BELAY, 2002). A baixa concentração de ácidos nucleicos permite sua utilização como complemento nutricional.

3.1.4. Condições de cultivo

3.1.4.1. Fonte de Carbono

As cianobactérias apresentam diferentes esquemas metabólicos que incluem a ausência do ciclo de Krebs completo; assimilam o carbono usando o ciclo de Calvin e guardam energia e carbono em forma de glicogênio. Possuem a capacidade de acumular bicarbonato no meio intracelular quando este está em falta no meio extracelular, e, além disso, utilizam o dióxido de carbono como fonte de carbono para o seu metabolismo (CORNET *et al.*, 1998). *Arthrospira sp.* é cultivada autotroficamente utilizando altos níveis de carbonatos e bicarbonatos como fontes de carbono, por serem de baixo custo e proporcionarem um aumento no pH do meio de cultura.

A principal fonte de carbono é o íon bicarbonato que entra na célula por transporte ativo e posteriormente a enzima anidrase carbônica presente no meio intracelular e/ou na membrana periplasmática age sobre o bicarbonato liberando o dióxido de carbono (Figura 3). Este é incorporado no ciclo de Calvin produzindo moléculas orgânicas, tais como carboidratos, proteínas e lipídeos (KAPLAN; REINHOLD, 1999).

Figura 3. Representação esquemática da assimilação de bicarbonato por *Arthrospira sp.*

Fonte: RANGEL-YAGUI *et al.*, 2004.

3.1.4.2. Fonte de Nitrogênio

O nitrogênio é o segundo nutriente mais importante depois do carbono, e pode variar de 1 % a mais de 10 % em micro-organismos fotossintetizantes, dependendo da quantidade fornecida deste nutriente (GROBBELAAR, 2004). Esta afirmação está de acordo com Cornet *et al.* (1992) os quais apresentam a fórmula mínima da biomassa seca de *S. platensis* como $\text{CH}_{1,650} \text{O}_{0,531} \text{N}_{0,170} \text{S}_{0,007} \text{P}_{0,006}$, ou seja, conteúdo de nitrogênio igual a 7 %.

Este nutriente é tradicionalmente fornecido para *A. platensis* na forma de sais de nitrato, de sódio (SCHLÖSSER, 1982; ZARROUK, 1966) ou de potássio (PAOLETTI; PUSHPARAJ; TOMASELLI, 1975) os quais compõem os meios de cultivo padrões.

As cianobactérias são os únicos procariontes fotossintetizantes que realizam fotossíntese oxigênica como as plantas. Muitos destes micro-organismos podem empregar íons de nitrato, nitrito ou amônio como fontes de nitrogênio e algumas espécies também são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico ou empregar ureia como fonte de nitrogênio. As cianobactérias possuem sistemas de transporte específicos para cada forma de nitrogênio, mas a maioria é incorporada por difusão. Este sistema de transporte é dependente da concentração de nitrogênio assim como do pH do meio de cultura. A assimilação do nitrato ocorre pelo seu

transporte ativo para dentro da célula, e para que possa ser metabolizado deve ser reduzido, com gasto de energia, a nitrito pela ação da enzima nitrato redutase, e em seguida a amônia pela ação da enzima nitrito redutase (Figura 4). As duas enzimas usam ferredoxina como doador de elétrons (HATTORI; MYERS, 1966).

Figura 4. Representação esquemática da assimilação de nitrogênio em cianobactérias.

Fonte: MURO-PASTOR; FLORÊNCIO, 2003.

3.1.4.3. Outros nutrientes

Ânions como PO_4^{-3} , SO_4^{-2} e cátions como Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , são importantes no meio de cultura, pois são necessários em funções estruturais e metabólicas. Os micronutrientes são requeridos em pequenas quantidades, pois agem principalmente como catalisadores, regulam reações enzimáticas e processos fisiológicos (MADIGAN *et al.*, 2009).

3.1.4.4. Luz

A velocidade de crescimento e o rendimento da produção sofrem influência da intensidade luminosa e, também, da duração da irradiação até um limite que é denominado ponto de saturação luminosa. De acordo com Balloni *et al.* (1980), este ponto está por volta de 60 a 120 $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mesmo num cultivo permanentemente iluminado, há instantes em que a célula está recebendo luz e há instantes em que ela está em uma região de sombra, exercida pelas próprias células. Esse regime de claridade/escuridão é afetado pela intensidade

de agitação do tanque, da turbulência e da densidade populacional (RICHMOND, 1988; RANGEL, 2000).

Ao utilizar baixas intensidades luminosas, a velocidade de crescimento é diminuída, e, conseqüentemente, ocorre pequena produção de biomassa (BALLONI *et al.*, 1980). No entanto, a iluminação muito forte dos cultivos de micro-organismos fotossintetizantes gera dois efeitos principais: fotoinibição, que leva a um decréscimo no rendimento máximo do crescimento e fotoxidação, que tem efeitos letais nas células, podendo levar à perda total da cultura (JENSEN; KNUTSEN, 1993).

3.1.4.5. pH

O pH é outra variável que interfere no crescimento microbiano. Em cultivos de *Arthrospira*, há uma importância maior, pois a forma como a fonte de carbono se apresenta é determinada por esta variável. Schlösser (1982) apresenta um meio padrão utilizado para cultivos de *Arthrospira* o qual é rico em bicarbonato e carbonato, e a proporção destes sais determinam o pH alcalino deste meio de cultivo. A faixa de pH ótimo deste micro-organismo esta entre 8 - 11. Em cultivos industriais o pH es mantido acima de 9,4, pois acima deste valor se evita a contaminação por parte de outros micro-organismos (BERRY *et al.*, 2003).

3.1.4.6. Temperatura

A temperatura do líquido de cultivo tem uma influência direta sobre a velocidade de crescimento de *Arthrospira*, pois abaixo de 20 °C o crescimento é diminuído. A máxima velocidade específica de crescimento acima é da ordem de 29 °C (SANCHEZ-LUNA *et al.*, 2007) e em temperaturas superiores a 35 °C existe risco da destruição acelerada do cultivo, embora o efeito de temperatura na velocidade específica de crescimento possa variar dependendo da espécie (VONSHAK, 1997). A temperatura também apresenta efeito sobre a estrutura de componentes celulares. Tomaselli *et al.* (1993) verificou que o aumento de temperatura levou a um aumento do conteúdo de lipídeos e carboidratos, e ao mesmo tempo uma diminuição no teor de proteínas.

3.1.4.7. Agitação

A agitação é um fator indispensável no cultivo de *Arthrospira*, para favorecer a dispersão homogênea do micro-organismo no meio de cultura e a exposição à luz dos filamentos, assim como para a ativação do mecanismo fotossintético. Uma forte agitação leva à formação de espuma, interferindo na penetração da luz, além de quebrar os filamentos de *Arthrospira* (RODRIGUEZ-MAROTO *et al.*, 2005).

3.1.5. Biorreatores

Existe uma ampla variedade de biorreatores utilizados para o cultivo de micro-organismos fotossintetizantes como cianobactérias e microalgas. Alguns deles são utilizados atualmente para produção industrial destes (LEE, 2001). Para o cultivo temos dois tipos de sistema: tanques abertos com moderada relação superfície/volume ($3-10 \text{ m}^{-1}$) e fotobiorreatores fechados com elevada relação superfície/volume ($25-125 \text{ m}^{-1}$) (WEISSMAN; GOEBEL, 1988).

O desenho mais comum para sistemas abertos são tanques em forma de pista, agitados por rodas de pás, com profundidades de ordem de 15 a 20 cm. Principais desvantagens são perdas por evaporação e riscos de contaminação e poluição (PULZ, 2001). Mas para a maior parte dos produtos de cultivo de algas, sistemas abertos representam a única alternativa capaz de atender aos requisitos econômicos e operacionais destes processos (WEISSMAN; GOEBEL, 1988),

3.1.6. Processo descontínuo

Processo descontínuo clássico ou simplesmente processo descontínuo é um processo fermentativo utilizado desde a antiguidade. Cada fermentador recebe um inóculo e em seguida adiciona-se todo o mosto num intervalo de tempo que pode ser considerado desprezível em relação ao tempo de fermentação. Terminada a fermentação, a dorna é descarregada. O material fermentado pode ou não ser separado da fração celular, dependendo do produto fermentado e se for separado da fração celular, esta pode ou não ser reutilizada para inocular a dorna para fermentação subsequente. É um processo que pode levar a baixos rendimentos

e/ou produtividades quando o substrato adicionado de uma vez só no início da fermentação exerce efeitos inibitórios ou desvia o metabolismo celular a produtos que não interessam. Mas é um processo bastante útil. Principalmente, quando se deseja rigor em esterilidade. Por outro lado, é o processo mais utilizado na indústria de alimentos. Alguns dos alimentos e bebidas produzidos por este processo fermentativo são: iogurte, chucrute, pickles, cerveja, vinho, entre outros (CARVALHO, 1994).

3.1.7. Usos e Aplicações

Algumas das aplicações mais conhecidas da cianobactéria *Arthrospira platensis* são apresentadas na Tabela 2. Esta biomassa é usada para produzir uma variedade de produtos saudáveis comercializados na forma de tabletes, cápsulas, pó ou também para a extração de diferentes substâncias bioativas. Existem numerosos trabalhos nos quais são avaliadas *in vivo* e *in vitro* as propriedades terapêuticas e a presença de compostos antioxidantes de *Arthrospira*. Tem sido avaliada a eficácia deste micro-organismo no tratamento de algumas alergias, anemias, doenças virais e cardiovasculares, hiperglicemia, hiperlipidemia, processos inflamatórios, entre outros (CHAMORRO *et al.*, 2002; BELAY, 2002).

Tabela 2. Usos e aplicações de *Arthrospira platensis*.

Uso nutricional e farmacêutico	Uso terapêutico	Uso ambiental
Proteína unicelular ¹	Ação antialérgico e anticoagulante	Tratamento de águas residuais ⁶
Lípidos e ácidos graxos poliinsaturados ²	Proteção cardiovascular	Remoção de N e P
Polissacarídeos ³	Efeito antianêmico e antitóxico	Bioadsorção de metais pesados
Vitaminas ⁴	Imunoestimulante	Biofertilizante
Pigmentos e antioxidantes ⁵		Biocombustíveis ⁷

Fontes: ¹ DANESI *et al.*, 2002; TACON; JACKSON, 1985; ² MAHAJAN; KAMAT, 1995; ³ PULZ; SCHEIBENBOGEN, 1998; ⁴ BECKER, 1981; ⁵ SPOLAORE *et al.*, 2006; BELAY, 2002; ⁶ CIFERRI; TIBONI, 1985; ⁷ CHISTI, 2007.

A biomassa da *Arthrospira* é comercializada principalmente como complemento na alimentação de seres humanos e animais devido a sua composição química. A segurança como alimento tem sido estabelecida por muito tempo através do seu consumo, além dos numerosos estudos toxicológicos (CHAMORRO *et al.*, 2002).

A cianobactéria *Arthrospira* também pode ser utilizada no tratamento de águas residuais, renovação da água através da detoxificação biológica e remoção de metais pesados. Por ser um micro-organismo fotossintetizante, tem a capacidade de produzir oxigênio e de remover nutrientes como nitrogênio e fósforo reduzindo a eutrofização nos corpos de água. A biomassa pode ser recuperada e reutilizada também, e pode ainda ser utilizada como combustível ou para produção de metano (CIFERRI; TIBONI, 1985).

3.2. Tecnologias de tratamento de efluentes

A remoção dos poluentes constitui o objetivo do tratamento de efluentes. Entretanto, devido a sua diversidade, não existe uma fórmula pronta, adequada para utilização em qualquer situação. Para atingir o objetivo, existem vários processos de tratamento, baseados em fenômenos ou princípios físicos, químicos ou biológicos, ou ainda, em suas combinações (LA ROVERE *et al.*, 2002).

O tratamento de efluentes é usualmente classificado de acordo com os seguintes níveis: preliminar; primário; secundário e terciário, de acordo com o grau de remoção de poluentes que se deseja atingir (OLIVEIRA, 2006). O tratamento preliminar objetiva apenas a remoção dos sólidos grosseiros e areia. Enquanto, o tratamento primário visa à remoção de sólidos sedimentáveis e parte da matéria orgânica. Em ambos predominam os mecanismos físicos de remoção de poluentes (MOTA, 2003). Já no tratamento secundário, no qual predominam mecanismos biológicos, o objetivo é principalmente a remoção da matéria orgânica solúvel e, eventualmente nitrogênio e fósforo (SPERLING, 2005). O tratamento terciário objetiva a remoção de poluentes específicos (usualmente tóxicos ou compostos não biodegradáveis) ou ainda, a remoção complementar de poluentes não suficientemente removidos no tratamento secundário (VON SPERLING, 1996), podendo ser citados nitrogênio e fósforo.

Todos os contaminantes presentes nas águas residuais podem ser eliminados por meios físicos, químicos e biológicos, ou pela combinação destes. Estes métodos de tratamento de esgoto, apesar de serem individuais, são classificados normalmente em operações físicas,

químicas e biológicas unitárias. Porém, em um processo de tratamento, usam-se todos em conjunto (MONTSORIU, 1985).

Os processos físicos removem substâncias fisicamente separáveis dos líquidos ou que não se encontram em dissolução. Exemplos de processos físicos: remoção de sólidos grosseiros; remoção de sólidos flutuantes; filtração dos efluentes. Processos químicos são processos nos quais ocorre adição de produtos químicos. São utilizados de forma auxiliar aos processos físicos e biológicos, ou complementando-os. Exemplos de processos químicos: coagulação; precipitação química e oxidação química. Processos biológicos são aqueles que dependem da ação de micro-organismos presentes nos esgotos e na alimentação dos mesmos. São classificados em: aeróbio (lodos ativados, filtros biológicos, valos de oxidação e lagoas de estabilização) e anaeróbio (reatores anaeróbios e fossas sépticas) (OLIVEIRA, 2006).

3.2.1. Coagulação

A maioria das substâncias coloidais das águas naturais é carregada negativamente; daí a tendência de serem estáveis como resultado das forças de repulsão entre estas partículas (DUAN; GREGORY, 2003). Na coagulação, as partículas coloidais são neutralizadas e aglutinadas em partículas de maiores dimensões (maior volume e maior massa) através do uso de coagulantes (reagentes químicos), que eliminam a carga eletroestática negativa da superfície das partículas, o que diminui a repulsão entre elas, e através da agitação rápida que promove o choque entre as partículas (Figura 5). Cátions com elevada carga como Al^{+3} e Fe^{+3} são os que se mostram mais efetivos, que permitem a formação de flocos através da precipitação conjunta do hidróxido metálico com as impurezas por ele neutralizadas, sob condições apropriadas de dosagem de coagulante e pH (DI BERNARDO, 1993). A dosagem ótima de coagulante depende de uma ampla faixa de parâmetros físico-químicos, como força iônica da solução, pH, carga elétrica específica do substrato e coagulante, concentração de substrato e área superficial específica (EISENLAUER; HORN, 1985).

Figura 5. Representação esquemática do processo de coagulação.

Fonte: ODEGAARD, 2010.

3.2.1.1. Mecanismos da coagulação

Há quatro mecanismos diferentes de coagulação: compressão da camada difusa; adsorção e neutralização de cargas; varredura; adsorção e formação de pontes. Segundo Di Bernardo (1993), todos esses mecanismos, com exceção do primeiro, pode ocorrer no tratamento de águas residuais.

A compressão da camada difusa é o mecanismo em que a estabilidade estática dos colóides é eliminada por forças de Van der Waals, maximizadas pela adição de íons de carga contrária a das partículas coloidais em suspensão na água bruta. Segundo Pavanelli (2001) a adição desses íons comuta no adensamento da camada difusa, dessa forma a influência do potencial zeta é minimizada, resultando na desestabilização do meio. O autor ainda ressalta dois importantes aspectos nesse mecanismo: a) para haver a coagulação, a quantidade de eletrólitos é praticamente independente da concentração de colóides na água; b) para qualquer quantidade adicionada de eletrólitos, é impossível causar a reestabilização das partículas coloidais. Neste mecanismo pode-se citar como exemplo o encontro da água doce dos rios com a água do mar, que causa a formação de depósitos nas desembocaduras.

A adsorção e neutralização de cargas ocorrem porque as macromoléculas naturais ou sintéticas (polieletrólitos) apresentam uma forte tendência de agregação nas interfaces. Os sais de Fe^{3+} e Al^{3+} utilizados como coagulantes, são considerados polieletrólitos, porque formam elementos hidrolisados polinucleares, que são prontamente adsorvidos na interface partícula-água. Quando uma quantidade de sais de Fe^{3+} ou de Al^{3+} é adicionada à água residual e esta quantidade é suficiente para exceder a solubilidade máxima do hidróxido do metal correspondente, uma série de reações hidrolíticas ocorrem, originando, desde a produção de

Al(OH)^{2+} ou de Fe(OH)^{2+} , por exemplo, até a formação de precipitados de hidróxidos de metais (MENDES, 1989).

A quantidade de polímero adsorvido e, conseqüentemente, a dosagem de coagulante necessária para proporcionar a desestabilização dos coloides, dependem da quantidade de coloides presentes. Há, então, uma dependência “estequiométrica” entre a dosagem de coagulante e a concentração de coloides. Essas interações químicas específicas contribuem significativamente para a adsorção, e a desestabilização coloidal é facilmente constatada a partir da verificação de que esses coagulantes, em dosagem adequada, podem causar a reversão das cargas coloidais (ODEGAARD, 2010).

A varredura se dá quando um sal de metal, tal como sulfato de alumínio ou cloreto férrico, ou um óxido (CaO), ou um hidróxido de metal, tal como Ca(OH)_2 , são empregados como coagulantes, em concentrações suficientemente altas para causar a rápida precipitação de um hidróxido de metal, Al(OH)_3 e Fe(OH)_3 , por exemplo, ou de um carbonato de metal, CaCO_3 , as partículas coloidais são envolvidas pelos precipitados e, como este mecanismo não depende da neutralização de cargas dos coloides, a dosagem ótima de coagulante pode não corresponder à concentração de coloides a ser removida (ODEGAARD, 2010).

O mecanismo da adsorção e formação de pontes é desenvolvido por intermédio da utilização de compostos orgânicos (polímeros) sintéticos ou naturais, utilizados como coagulantes; podem apresentar sítios ionizáveis ao longo de suas cadeias, podendo ser classificados como catiônicos, aniônicos, anfóteros (MENDES, 1989).

Os polímeros catiônicos tendem a atuar na neutralização das cargas negativas dos coloides das águas residuais. E, geralmente, têm massa molecular da ordem de 10^5 g/mol. Os polímeros aniônicos e anfóteros atuam na formação de pontes partícula-polímero-partícula e requerem massa molecular maior que 10^6 g/mol para serem efetivos (RICHTER; NETTO, 1991).

3.2.1.2. Agentes coagulantes

Os coagulantes convencionais mais comuns são formados por hidrólise de sais metálicos, tais como cloreto de alumínio (AlCl_3), sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), cloreto férrico (FeCl_3) sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), carbonato de magnésio (MgCO_3), podendo ser utilizados polímeros auxiliares de coagulação, como quitosana, entre outros. Os coagulantes convencionais têm a enorme vantagem de atuar

simultaneamente como coagulantes e floculantes e como principais desvantagens a formação de espécies complexas por hidrólise, que não pode ser controlada (BRAZ *et al.*, 2010). Destes os sais de alumínio e ferro são os agentes coagulantes mais utilizados no tratamento de água, por serem de baixo custo e terem capacidade coagulante já comprovada. O sulfato ferroso é muito útil para tratar águas com pH elevado, entre 8,5 e 11, o sulfato férrico é conveniente para tratamento de águas altamente coloridas é efetivo na faixa de pH entre 5,0 a 11,0; igualmente o cloreto férrico produz bons flocos nessa mesma faixa de pH (VIANNA, 1992).

O cloreto férrico é eficiente em uma faixa de pH ampla e superior a do sulfato de alumínio. Para um pH em torno de 8, o teor de resíduos que ficam de ferro é muito baixo, inferior a 0,1g/L. A dosagem ótima deste produto é muito pouco sensível às variações da qualidade da água bruta. Mais pelo geral é usado em doses de 5 a 100 mg/L de cloreto férrico comercial $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, de acordo com a turbidez da água. O que impede que ele seja mais usado que o sulfato de alumínio é o fato de possuir uma natureza corrosiva, que pode provocar problemas nas tubulações e equipamentos, além de requerer maior atenção durante o manuseio (DI BERNARDO, 1993). Na Tabela 3 são apresentadas algumas características do cloreto férrico.

Tabela 3. Propriedades físicas e químicas do cloreto férrico.

Nome IUPAC	Cloreto de ferro (III)
Outros nomes	Cloreto férrico Tricloreto de ferro
Fórmula molecular	FeCl_3
Massa molar	162,2 g/mol (anidro)
Aparência	Sólido amarelo
Densidade	2,90 g/cm ³
Ponto de fusão	304 °C
Ponto de ebulição	N/A
Solubilidade em água	Solúvel

Fonte: FISPQ. Synth®, 2014.

Por outro lado, o sulfato férrico é eficiente numa faixa de pH de 4 a 11, uns dos mais amplos conhecidos. Produz flocos grandes e densos que decantam mais rapidamente. Assim, é

indicado para o tratamento de águas residuais com alta carga de contaminantes, é também utilizado no tratamento de água potável, embora em alguns casos possa causar problemas de coloração. É usado em doses de 10 a 50 mg/L de sulfato de ferro comercial $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, dependendo da turbidez da água (DI BERNARDO, 1993). Na Tabela 4 são apresentadas algumas características do Sulfato férrico.

Tabela 4. Propriedades físicas e químicas do sulfato férrico.

Nome IUPAC	Sulfato de ferro (III)
Outros nomes	Sulfato férrico
Fórmula molecular	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$
Massa molar	399,87 g/mol (anidro)
Aparência	Cristais azuis esverdeados
Densidade	3,12 g/cm ³
Ponto de fusão	480°C
Ponto de ebulição	N/A
Solubilidade em água	Solúvel

Fonte: FISPQ. Synth®, 2014.

3.2.2. Adsorção com carvão ativado

A adsorção pode ser entendida como o processo pelo qual uma substância se acumula na interface entre duas fases que podem ser líquido-líquido, líquido-sólido e gás-líquido. A fase onde ocorre a acumulação da substância é denominada adsorvente e qualquer substância adsorvida é denominada adsorvato. O carvão ativado é um produto amplamente utilizado como adsorvente em águas para abastecimento pela sua capacidade de remover compostos que conferem cor, gosto e odor. Vários materiais são empregados na sua fabricação, como: madeira, casca de coco, sementes, resíduos a base de petróleo, entre outros (MCKEOWN *et al.*, 2005). A fabricação do carvão ativado envolve dois processos principais: a carbonização da matéria-prima, que consiste no tratamento térmico do material em atmosfera inerte a elevada temperatura e a ativação desse produto em atmosfera redutora (SWIATKOWSKI *et al.*, 1998).

A adsorção se dá por interações dipolo-dipolo, pontes de hidrogênio e principalmente por forças de Van der Waals entre os compostos e o adsorvente. O carvão ativado é utilizado na forma granular (em leitos fixos) ou em pó. De acordo com a união internacional de química pura e aplicada (IUPAC), os poros dos carvões ativados podem ser classificados em três grupos: microporos, mesoporos e macroporos, conforme mostrado na Tabela 5. Segundo STACHIW (2005) todos os carvões ativados contêm micro, meso e macroporos em sua estrutura, mas a proporção relativa varia consideravelmente de acordo com a matéria prima utilizada para sua fabricação e o processo de fabricação utilizado.

Tabela 5. Classificação dos poros do carvão ativado*.

Tipo de poro	Diâmetro médio	Função Principal
Microporos	menor que 2 nm	Contribuem para a maioria da área superficial que proporciona alta capacidade de adsorção para moléculas de dimensões pequenas, tais como gases e solventes comuns.
Mesoporos	entre 2 e 50 nm	São importantes para a adsorção de moléculas grandes tais como corantes e proporcionam a maioria da área superficial para carvões impregnados com produtos químicos.
Macroporos	maior que 50 nm	São normalmente considerados sem importância para a adsorção e sua função é servir como meio de transporte para as moléculas gasosas.

* De acordo com a união internacional de química pura e aplicada (IUPAC)

As propriedades físicas do carvão ativado usado no tratamento de água incluem a área superficial, distribuição do tamanho dos poros, densidade do carvão, número de iodo (NI), número de melado ou índice de descoloração, índice de fenol, índice de azul de metileno (IAM), teor de umidade, dureza, conteúdo de cinzas, tamanho da partícula, entre outras. Um dos métodos mais comuns para determinação da área superficial de um sólido é baseado na determinação da quantidade de adsorvato necessária para recobrir a superfície de um adsorvente com uma monocamada de adsorvato (BRANDÃO; SILVA, 2006).

O índice de azul de metileno (IAM) vem sendo utilizado como parâmetro para estimar a mesoporosidade do carvão ativado. Enquanto que o número de iodo (NI) está relacionado à

quantidade de microporos presentes numa amostra de carvão ativado. O número de melado é um índice obtido através de testes de descoloração de uma solução de melaço de cana de açúcar; quanto maior o índice, maior a capacidade adsortiva do carvão para moléculas de maior peso molecular e se relaciona ao número de macroporos do carvão ativado. Como é apresentado na Figura 6 (JAGUARIBE *et al.*, 2005; BAÇAOUI *et al.*, 2001). Para CAP usado em tratamento de águas de abastecimento a Norma Brasileira NBR 11834 especifica os valores mínimo de $600 \text{ mgI}_2.\text{g}^{-1}$ para número de Iodo e máximo $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ para índice de fenol (ABNT, 1991).

Figura 6. Desenho esquemático do tamanho de poros em partículas de carvão ativado e sua correlação com o método de medida (índices de melaço, azul de metileno e iodo).

Fonte: JAGUARIBE *et al.*, 2005.

Em estações de tratamento de água (ETAs) convencionais (Figura 7), os pontos mais indicados para adição de CAP são na captação, na entrada da ETA, que pode ser a montante ou a jusante da mistura rápida ou juntamente com o coagulante e, eventualmente, no canal de água decantada a montante dos filtros (FERREIRA FILHO, 1996). O CAP aplicado na água bruta objetiva um aumento do tempo de contato deste com os compostos orgânicos causadores de gosto e odor para, posteriormente, ser incorporado ao hidróxido metálico formado durante o processo de coagulação para remoção subsequente nos decantadores e, eventualmente, no sistema de filtração (NAJM *et al.*, 1990).

Figura 7. Esquema de possíveis pontos de aplicação do CAP em ETAs convencionais.
 Fonte: MARCHETTO e FERREIRA FILHO, 2005.

Diversos autores investigaram a eficiência de diferentes tipos de carvão ativado na remoção de microcistina, e constataram a aplicabilidade deste produto para tal finalidade. Falconer (1989) testou diversas amostras de carvão ativado em pó (CAP) e carvão ativado granular (CAG) em ensaios de bancada e estação piloto, obtendo resultados com pouca diferença entre os dois tipos de ensaios, e confirmando a eficiência do carvão ativado visando à remoção de hepatotoxinas e neurotoxinas.

Fawell *et al.* (1993) realizaram ensaios de coagulação com cloreto férrico em equipamento de *jartest* e adsorção com carvão antracito e CAP de madeira e coco em dosagens variando de 0 a 110 mg/L. Concluíram que CAP à base de madeira foi claramente superior na remoção de toxina; a dosagem de 20 mg.L⁻¹ produziu remoção de 85 % de toxinas da água de estudo enriquecida com MC-LR, enquanto que apenas 40 % foi removido com os outros dois tipos de carvão testados.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Fermentações do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

4.1. Cultivos de *Arthrospira platensis* para obtenção dos efluentes a serem tratados

4.1.1. Micro-organismo e manutenção

O micro-organismo utilizado para a realização dos cultivos foi *Arthrospira platensis* UTEX LB #1926, proveniente da UTEX (*The Culture Collection of Algae of the University of Texas*) (Figura 8). A cepa foi conservada em tubos de ensaios contendo 10 mL de meio de cultura líquido Schlösser (Tabela 6), e mantida à temperatura ambiente e sem agitação.

Figura 8. *Arthrospira platensis*. Cepa UTEX LB #1926.

Fonte: UTEX, 2014.

4.1.2. Meio para cultivo de *Arthrospira platensis*

Para a realização dos experimentos foram utilizados meios de cultivo Schlösser padrão com nitrato de sódio como fonte de nitrogênio (Tabela 6) (SCHLÖSSER *et al.*, 1982). Para o preparo do meio Schlösser foi preciso separá-lo em duas partes (parte A e parte B), autoclavadas separadamente a 121 °C por 20 min., e misturadas no fluxo laminar, de modo a

não haver qualquer tipo de precipitação no meio. Depois de preparado, o meio de cultura foi utilizado para manutenção do micro-organismo e preparo do inóculo. Nos cultivos de *A. platensis* em minitanques foram utilizados meios não esterilizados.

Tabela 6. Composição do meio padrão de Schlösser.

	COMPONENTES	QUANTIDADE
Parte A	NaHCO ₃	13,61 g.L ⁻¹
	Na ₂ CO ₃	4,03 g.L ⁻¹
	K ₂ HPO ₄	0,50 g.L ⁻¹
Parte B	NaNO ₃	2,50 g.L ⁻¹
	K ₂ SO ₄	1,00 g.L ⁻¹
	NaCl	1,00 g.L ⁻¹
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20 g.L ⁻¹
	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,04 g.L ⁻¹
	*Solução de metais - PIV	6 mL.L ⁻¹
	** Solução de micronutrientes - CHU	1 mL.L ⁻¹
	Vitamina B ₁₂ (15µg/100 mL H ₂ O)	1 mL.L ⁻¹

*Solução de metais - PIV (mg.L⁻¹): Na₂EDTA, 750; FeCl₃.6H₂O, 97; MnCl₂.4H₂O, 41; ZnCl₂, 5; CoCl₂.6H₂O, 2; Na₂MoO₄.2H₂O, 4.

**Solução de micronutrientes - CHU (mg.L⁻¹): Na₂EDTA, 50; H₃BO₃, 618; CuSO₄.5H₂O, 19,6; ZnSO₄.7H₂O, 44; CoCl₂.6H₂O, 20; MnCl₂.4H₂O, 12,6; Na₂MoO₄.2H₂O, 12,6.

4.1.3. Preparo do inóculo

Em condições assépticas em fluxo laminar foram retiradas alçadas a partir dos tubos de ensaio contendo *A. platensis* com 10 mL de meio Schlösser (Item 4.1.1) para inocular frascos Erlenmeyer de 500 mL, com 250 mL de meio de cultivo Schlösser, depois de inoculados, estes erlenmeyers foram dispostos em um agitador rotativo, a 100 rpm, temperatura de 29 ± 1°C e sob uma intensidade luminosa de 72 µmol fótons m⁻² s⁻¹ (CARVALHO *et al.*, 2004; SANCHEZ-LUNA *et al.*, 2007).

Após sete dias de cultivo, a suspensão de *A. platensis* resultante foi então filtrada, lavada com solução fisiológica e ressuspensa em meio padrão de Schlösser. Esta suspensão,

contendo células em crescimento em fase exponencial, serviu de inóculo para os cultivos em minitanques.

4.1.4. Dispositivo para cultura

Foram utilizados minitanques de forma alongada (BELAY, 1997). Estes tanques foram construídos de lâminas de PVC (cloreto de polivinila) de cor branca, moldadas de tal modo que propiciassem um circuito hídrico de forma geométrica elíptica. A movimentação da cultura foi executada por pás rotativas com frequência de 15 rotações por minuto a fim de obter homogeneização da cultura.

4.1.5. Descrição do ensaio

Uma suspensão de *A. platensis* com concentração inicial fixada em 50 mg.L^{-1} (PELIZER *et al.*, 2003), foi adicionada aos minitanques e o volume completado para 5 litros com meio Schlösser. O volume foi corrigido diariamente com adição de água destilada. A temperatura de $29 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ (SANCHEZ-LUNA *et al.*, 2007) foi mantida por meio de resistência elétrica e a intensidade luminosa de $72 \text{ } \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (CARVALHO *et al.*, 2004) fornecida por lâmpadas fluorescentes Super Luz do dia de 20 Watts. Estes cultivos foram mantidos até cessar o crescimento celular (Figura 9).

Figura 9. Cultivos de *Arthrospira platensis* em minitanque.

Ao final do cultivo, os 5 L de meio Schlösser contendo as células de *Arthrospira platensis* foram filtrados e recolhidos, sendo realizadas duas lavagens sucessivas da biomassa utilizando água destilada, permitindo dessa forma a remoção do sal adsorvido às células. Após os processos de filtração e lavagem, a biomassa úmida foi submetida a um processo de secagem com ventilação a 55 °C durante 12 horas (PELIZER *et al.*, 1999). Neste processo final, onde a biomassa de *A. platensis* é recolhida por filtração, são gerados os efluentes que foram tratados para seu reaproveitamento.

4.1.6. Técnicas analíticas para acompanhamento dos cultivos

Diariamente foram retiradas amostras para as determinações correspondentes ao pH e concentração celular. E ao final dos cultivos foram avaliadas as concentrações de nitrato e carbonato, por técnicas analíticas descritas a seguir.

4.1.6.1. Determinação do pH

Os valores de pH foram acompanhados com o auxílio de um potenciômetro (Metler Toledo, modelo 2100E). As leituras de pH foram realizadas através da imersão direta do eletrodo no meio de cultura. O eletrodo utilizado nas medições foi calibrado conforme as instruções do fabricante, sempre anteriormente a uma leitura.

4.1.6.2. Determinação da concentração celular

A concentração celular foi determinada diariamente por turbidimetria (LEDUY; THERIEN, 1977) a partir de amostras de 5 mL de meio contendo células, retiradas após a homogeneização do cultivo. Essas amostras ou suas diluições tiveram os valores de transmitância determinados em espectrofotômetro (Femto, modelo 700Plus), em comprimento de onda de 560 nm. Uma curva de calibração prévia relacionando os valores do logaritmo da transmitância com concentrações celulares expressas em massa seca permitiu o cálculo destas ao longo dos cultivos.

4.1.6.3. Determinação de nitrato

A concentração de nitrato foi medida, utilizando-se um fotômetro de bancada multiparâmetro (HANNA, modelo HI83200). O método consiste em uma adaptação do método de redução do cádmio. A reação entre o nitrato e o reagente causa uma coloração âmbar na amostra que foi medida com uma lâmpada de tungstênio com filtro de interferência de faixa estreita a 525 nm (Método da redução por cádmio 4500-NO₃-E) (APHA 1998).

4.1.6.4. Determinação de carbonato

A concentração de carbonato foi determinada utilizando o método titulométrico com indicador (fenolftaleína). (Método titulométrico 2320 B) (APHA 1998).

4.1.7. Avaliação da biomassa seca

Ao final do cultivo, foi avaliado por duplicata o teor de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, da biomassa previamente recolhida por filtração, lavada com água destilada e seca a 55 °C por 12 horas.

4.1.7.1. Lipídios totais

O teor lipídico da biomassa seca de *A. platensis* foi quantificado usando a metodologia descrita por Piorreck *et al.* (1984) e Olguín *et al.* (2001). As amostras de biomassa triturada foram submetidas ao processo de extração contínuo de Soxhlet com refluxo de mistura de solventes como clorofórmio e metanol na proporção 2:1 (v/v) até o líquido ficar límpido. Os resíduos de lipídios junto aos solventes passaram por um sistema evaporador rotativo a vácuo para a eliminação dos solventes. O material obtido reúne ácidos graxos, triglicerídeos, fosfolipídios, carotenoides, pigmentos fotossintetizantes, esteroides e hidrocarbonetos, sendo chamados de fração lipídica total. Os valores em massa de lipídios foram calculados com base na diferença de massa do balão antes e após o procedimento efetuado.

4.1.7.2. Proteínas totais

O teor proteico total na biomassa seca foi determinado pelo clássico método de Kjeldhal, adotando-se o fator de 6,25 para a conversão a partir dos teores de nitrogênio total (AOAC, 1984). As amostras desengorduradas, provenientes da etapa da determinação de lipídios, foram trituradas novamente e submetidas a aquecimento intenso, na presença de H_2SO_4 concentrado e catalisador, em bloco digestor a 350 °C. Tal procedimento promove a destruição da matéria orgânica e formação de nitrogênio inorgânico, na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. A alcalinização deste resíduo, durante uma etapa de destilação do nitrogênio, promove a conversão do sal em amônia, recolhida em solução saturada de ácido bórico. A titulação desta solução com HCl 0,020 N padrão permite a determinação da concentração de nitrogênio na amostra utilizada.

4.1.7.3. Cinzas totais

No ensaio de determinação de cinzas totais, aproximadamente 1,0 g da biomassa seca foi transferida e distribuída uniformemente num cadinho previamente secado e tarado. Posteriormente o cadinho foi levado à mufla, aumentando gradativamente, a temperatura para não ultrapassar $600 \pm 25^\circ\text{C}$, até que todo o carvão foi eliminado. O gradiente de temperatura usado foi (30 minutos a 200 °C, 60 minutos a 400 °C e 90 minutos a 600 °C), após este tempo o cadinho foi resfriado em dessecador e pesado (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

4.1.7.4. Carboidratos

Os carboidratos foram analisados por diferença entre as porcentagens dos demais componentes analisados: proteínas totais, lipídios totais e cinzas totais.

4.2. Tratamento do efluente obtido no cultivo de *Arthrospira platensis*

4.2.1. Tratamento do efluente

Os efluentes obtidos ao final do processo de obtenção da biomassa de *A. platensis* foram tratados com carvão ativado em pó (CAP) e para facilitar a eliminação de matéria orgânica no meio foram testados em separado os agentes coagulantes cloreto férrico (FeCl_3) e sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$). Inicialmente, em 2 L de efluente foram adicionadas simultaneamente a dosagem do coagulante e CAP e submetidos à agitação de 150 rpm por 30 min. Decorrido este tempo, foi desligado o sistema de agitação e aguardou-se a sedimentação dos flocos por 30 minutos. Em seguida, os efluentes foram filtrados a vácuo usando papel filtro qualitativos (Porosidade: 3 μm , cinzas: 0,5 %), sendo determinados os parâmetros físico-químicos listados no item 4.2.3. Esses meios tratados foram utilizados novamente no cultivo de *A. platensis* (Item 4.3).

4.2.2. Planejamento experimental

Para os tratamentos dos efluentes foi adotado o delineamento experimental de blocos ao acaso e todos os experimentos realizados em duplicata. O planejamento experimental teve por finalidade avaliar as variáveis independentes: concentração do carvão ativado em pó, concentração dos agentes coagulantes, cloreto férrico ou sulfato férrico. As variáveis dependentes foram os parâmetros físicos químicos: variação de pH, concentrações de carbonato, nitrato, fosfato, matéria orgânica e pigmentos, no efluente antes e após os tratamentos. As condições de tratamentos dos efluentes obtidos dos cultivos de *A. platensis*, utilizando carvão ativado em pó (CAP) e os agentes coagulantes cloreto férrico (FeCl_3) ou sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Ensaios e condições experimentais dos tratamentos do efluente usando carvão ativado em pó (CAP) e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico.^a

ENSAIOS	DOSAGEM		
	CAP (mg.L ⁻¹)	Agentes coagulantes	
		FeCl ₃ (mg.L ⁻¹)	Fe ₂ (SO ₄) ₃ (mg.L ⁻¹)
E ₁	30	6	-
E ₂	40	6	-
E ₃	50	6	-
E ₄	30	10	-
E ₅	40	10	-
E ₆	50	10	-
E ₇	30	14	-
E ₈	40	14	-
E ₉	50	14	-
E ₁₀	30	-	15
E ₁₁	40	-	15
E ₁₂	50	-	15
E ₁₃	30	-	25
E ₁₄	40	-	25
E ₁₅	50	-	25
E ₁₆	30	-	35
E ₁₇	40	-	35
E ₁₈	50	-	35

^a Os experimentos foram realizados em duplicata.

4.2.3. Caracterização físico-química do efluente

Os parâmetros físico-químicos avaliados dos efluentes obtidos no ensaio prévio (item 4.2.1), antes e após do tratamento com carvão ativado em pó e os agentes coagulantes (cloreto férrico ou sulfato férrico), são detalhados a seguir.

4.2.3.1. Determinação do pH

A medição do pH foi feita com o auxílio de um potenciômetro (Metler Toledo, modelo 2100E). As leituras foram realizadas através da imersão direta do eletrodo nos efluentes, após o eletrodo ser calibrado.

4.2.3.2. Determinação de nitrato

A concentração de nitrato foi medida, utilizando-se um fotômetro de bancada multiparâmetro (HANNA, modelo HI83200) (Método da redução por cádmio 4500-NO₃-E) (APHA 1998).

4.2.3.3. Determinação de carbonato

A concentração de carbonato foi determinada utilizando o método titulométrico com indicador (fenolftaleína). (Método titulométrico 2320 B) (APHA 1998).

4.2.3.4. Determinação de fosfato

A concentração de fosfato foi avaliada, utilizando-se um fotômetro de bancada multiparâmetro (HANNA, modelo HI83200). O método é uma adaptação do método aminoácido, A reação entre o fosfato e os reagentes causa uma coloração azul na amostra, que foi medida com uma lâmpada de tungstênio com filtro de interferência de faixa estreita a 525 nm. (Método colorimétrico. ABNT-NBR 12772/1992).

4.2.3.5. Remoção de absorbância nos meios tratados

A avaliação das remoções de matéria orgânica natural (MON) e de pigmentos dos meios que sofreram os tratamentos físico-químicos para seus reusos foi realizada medindo absorbância das amostras em espectrofotômetro (Femto, modelo 700Plus), em comprimentos

de onda de 254 nm (A_{254}) (KABSCH-KORBUTOWICZ, 2005) e 440 nm (A_{440}) (FERRARI; TASSAN, 1999), respectivamente.

4.3. Cultivos de *Arthrospira platensis* nos meios tratados

4.3.1. Micro-organismo

A cepa utilizada foi *Arthrospira platensis* UTEX LB #1926 (Figura 8).

4.3.2. Preparo do inóculo

A partir das cepas mantidas em tubos de ensaios com 10 mL de meio Schlösser (Item 4.1.1), foram utilizados para inocular frascos Erlenmeyer de 500 mL, com 250 mL de meio de cultivo Schlösser, logo de serem inoculados, estes frascos Erlenmeyer foram dispostos em um agitador rotativo, a 100 rpm, temperatura de $29 \pm 1^\circ\text{C}$ e sob uma intensidade luminosa de $72 \text{ mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (CARVALHO *et al.*, 2004; SANCHEZ-LUNA *et al.*, 2007). Após sete dias de cultivo em fase exponencial, a suspensão de *A. platensis* foi então filtrada, lavada com solução fisiológica e usada como inóculo para os cultivos em frascos Erlenmeyer com meio tratado.

4.3.3. Dispositivo e meios para o cultivo de *A. platensis*

Os meios de cultivo para a realização dos experimentos foram os efluentes previamente tratados de acordo ao planejamento experimental descrito anteriormente (Item 4.2.2), aos quais foram adicionado $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ nitrato de sódio como fonte de nitrogênio. Os cultivos de *A. platensis* foram feitos em frascos Erlenmeyer de 1000 mL contendo 600 mL de meio tratado (Figura 10). Os erlenmeyers foram mantidos num agitador rotativo a 100 rpm (FERRAZ, 1986), intensidade luminosa de $72 \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (CARVALHO *et al.*, 2004), fornecida por lâmpadas fluorescentes Super Luz do dia de 40 Watts, dispostas a uma distância de 30 cm dos frascos e temperatura de $29 \pm 1^\circ\text{C}$, os cultivos foram mantido em esta condição até cessar o crescimento celular.

Figura 10. Cultivos de *Arthrospira platensis* em frascos Erlenmeyer.

4.3.4. Técnicas analíticas para acompanhamento dos cultivos

A cada dois dias foram retiradas amostras para as determinações correspondentes à concentração celular e o pH. Ao final dos cultivos foram avaliadas as concentrações de nitrato, carbonato e fosfato, de acordo às metodologias descritas a seguir.

4.3.4.1. Determinação da concentração celular e pH

A concentração celular foi determinada por turbidimetria (LEDUY; THERIEN, 1977) e, os valores de pH foram acompanhado por potenciometria (Metler Toledo, modelo 2100E).

4.3.4.2. Determinação de nitrato, carbonato e fosfato

Foram analisados empregando os seguintes métodos: método da redução por cádmio 4500-NO₃-E (Item 4.1.6.3), método titulométrico 2320-B (Item 4.1.6.4) (APHA 1998), e método colorimétrico (Item 4.2.3.4) (ABNT-NBR 12772/1992), respectivamente.

4.3.5. Avaliação da biomassa seca

Ao final dos cultivos, as biomassas foram recolhidas por filtração, lavadas com água destilada e secado a 55 °C por 12 horas e depois avaliados por duplicatas os seguintes teores: lipídeos, proteínas, cinzas, e carboidratos, de acordo a metodologia descritos no item 4.1.7.

4.4. Análise dos resultados

4.4.1. Cálculo dos parâmetros

A concentração celular foi determinada pela equação da reta (Equação 1) obtida a partir da curva de calibração. O valor da concentração de uma determinada amostra é calculado substituindo-se o logaritmo do valor de transmitância, obtido no espectrofotômetro com comprimento de onda de 560 nm.

$$X = -530,14 * \text{Log. Transmitancia} + 1059,7 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde X = concentração celular (mg.L⁻¹)

Os valores de concentração celular máxima (X_m), expressos em miligramas por litro, foram determinados a partir das curvas de crescimento celular de todos os ensaios realizados em frascos Erlenmeyer. Corresponderam ao maior valor diário de concentração celular, no decorrer dos cultivos.

A produtividade em células (P_x), expressa em miligramas por litro por dia, representa a média da velocidade de crescimento celular diárias, e foram determinados para todos os ensaios realizados em frascos Erlenmeyer com base na concentração total de células formadas e no tempo total de cultivo (Equação 2).

$$P_x = \frac{(X_m - X_i)}{T_c} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde X_m é a concentração celular máxima (mg.L⁻¹), X_i é a concentração celular inicial (mg.L⁻¹) e T_c é o tempo de cultivo (d).

Os teores de matéria orgânica natural (MON) e pigmentos presentes no meio foram calculados por densidade ótica, com medidas realizadas no espectrofotômetro, em absorbância a 254 nm e 440 nm respectivamente, e convertidos em porcentagem de remoção (MOROCHO-JÁCOME, 2014) (Equações 3 e 4, respectivamente).

$$R_{254} = \frac{(A_{at} - A_{dt})}{A_{at}} * 100 \quad (\text{Equação 3})$$

$$R_{440} = \frac{(A_{at} - A_{dt})}{A_{at}} * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde R_{254} e R_{440} representam as porcentagens de remoção de MON e pigmentos, respectivamente. A_{at} e A_{dt} correspondem às absorvâncias dos meios antes e depois dos tratamentos, respectivamente, sendo que para a avaliação de remoção de MON as absorvâncias foram medidas a 254 nm, enquanto que para remoção de pigmentos as absorvâncias foram medidas a 440 nm.

4.4.2. Análise estatística

Em relação à análise dos resultados para avaliar a eficiência dos diversos tratamentos usando CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico ou sulfato férrico empregados para remoção de matéria orgânica dos meios residuais dos cultivos prévios, os dados foram avaliados com análise de variância multivariada (MANOVA), e as médias foram comparadas por Teste de Tukey, realizadas no programa MINITAB 17, tendo como variáveis dependentes os valores de: perda de carbonato total, nitrato e fosfato e remoção de matéria orgânica e pigmentos nos efluentes após os tratamentos. Os melhores tratamentos foram os que possibilitaram uma mínima perda de nutrientes.

Adicionalmente, foi avaliado o crescimento de *A. platensis* para cada condição de tratamento de meio, usando também MANOVA, tendo como variáveis dependentes os parâmetros cinéticos e composição de biomassa. Os resultados obtidos foram comparados com as informações disponíveis na literatura, bem como com aqueles referentes às biomassas obtidas na etapa de obtenção de meio de cultivo, a fim de avaliar as possíveis influências exercidas nestas pelos diferentes tratamentos aplicados. Nas análises de variância, uma variável independente foi considerada significativa quando o nível descritivo (p) foi menor que 0,05.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Cultivos de *A. platensis* em minitanques para obtenção dos efluentes.

Com base nos cultivos de *A. platensis* feitos em minitanques, em processo descontínuo, com meio padrão de Schlösser (1982), com nitrato de sódio como fonte de nitrogênio, foi possível obter suficiente efluente, aproximadamente 60 L, que foram tratados e caracterizados e, posteriormente, aproveitados em novos cultivos de *A. platensis* em frascos Erlenmeyer.

Embora, estes cultivos foram feitos para possibilitar a obtenção dos efluentes, os parâmetros cinéticos de crescimento e composição da biomassa seca de *A. platensis* foram avaliados para garantir que os cultivos foram feitos nas mesmas condições de cultivos empregados em outros trabalhos semelhantes. Além disso, o conhecimento de alguns das técnicas analíticas empregadas em este cultivo serviu de referências para os cultivos em frascos Erlenmeyer.

A concentração celular foi avaliada diariamente com o espectrofotômetro em comprimento de onda 560 nm (LEDUY; THERIEN, 1977). Os valores de transmitância obtidos no espectrofotômetro foram convertidos em concentração celular através de uma curva de calibração. Esta curva de calibração foi obtida através da correlação entre o logaritmo da transmitância da amostra e a correspondente concentração celular, em massa seca (Gráfico 1).

Os resultados obtidos, referentes ao acompanhamento diário dos cultivos em minitanques usando meio Schlösser com nitrato de sódio, alusivo a concentração celular e pH são apresentados no Gráfico 2. No Gráfico 3 são discutidos os resultados de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, obtidos da biomassa seca de *A. platensis*.

Gráfico 1. Curva de calibração para determinação da concentração celular de *Arthrospira platensis*.

Gráfico 2. Concentração celular (X) e valor de pH em função do tempo (dias) obtidos do cultivos de *Arthrospira platensis* em minitânque, por processo descontínuo, com meio Schlösser com nitrato de sódio.

Gráfico 3. Conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas da biomassa seca obtidos dos cultivos de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em minitânque, usando meio Schlösser com nitrato de sódio.

Os cultivos em minitânques iniciaram-se com concentrações celulares de $50 \pm 5,0$ mg.L⁻¹, e após quatorze dias de cultivo atingiram concentrações celulares máxima, em média, igual a $1503 \pm 42,6$ mg.L⁻¹ (Gráfico1). A utilização de nitrato de sódio como fonte de nitrogênio nos cultivos descontínuos de *A. platensis* permitiu a obtenção de resultados bastante satisfatórios. Resultados semelhante foram observado por Colla *et al.* (2007), que avaliaram a influência de diferentes temperaturas do meio e concentrações de nitrato de sódio na produção e composição de biomassa de *A. platensis*, e observaram que o meio a 30 °C contendo 1,8 ou 2,5 g.L⁻¹ de nitrato de sódio, foram obtidas as mais elevadas concentrações de biomassa.

Trabalhos na literatura têm mostrado que o uso de nitrato como fonte de nitrogênio garante altas concentrações de biomassa de *S. platensis*, o que justifica a ampla utilização dos meios de cultivo de Schlösser (1982) e Paoletti *et al.* (1975), que empregam NaNO₃ e KNO₃, respectivamente.

A determinação do pH nos cultivos foi feita diariamente e observa-se um aumento de $9,5 \pm 0,00$ a $10,5 \pm 0,02$, acompanhando o crescimento celular (Gráfico 1). Este fenômeno de aumento do pH pode ser explicado pelo consumo dos íons bicarbonato como fonte de carbono durante o crescimento. De acordo com Whitton (1992), a *Spirulina* consome o carbonato e bicarbonato do meio, podendo aumentando o pH do meio até 11,5. Já Miller e Colman (1980)

afirmaram que a forma de carbono preferencialmente assimilada por cianobactérias é o bicarbonato, sendo o pH ideal de cultivo, aquele que assegure o maior deslocamento do equilíbrio químico no sentido de sua formação. Tal como foi apresentada na Figura 3, os íons bicarbonato são transportados ativamente do meio de cultivo para o interior das células, onde são convertidos a carbonato e gás carbônico (FERRAZ, 1986). Quando o pH atinge a faixa de 10,5, a concentração celular tende a estabilizar ou mesmo decrescer (DANESI, 2001). Isso pode ser explicado pelo fato de que, acima de pH 10,2, a fonte de carbono predominante é o carbonato (RUSSEL, 1981).

Como se observa no Gráfico 3, em média, o teor de proteínas foi de $55,9 \pm 4,6$ %, estando dentro do valor esperado para biomassa de *Spirulina*, de acordo com Vonshak (1997), que relatou que o teor de proteínas varia de 50 a 60 %. Os valores obtidos são extremamente próximos dos obtidos por Mahajan e Kamat (1995), que foi de 54 %. Estes resultados também são próximos aos encontrados por Colla *et al.* (2007), utilizando várias concentrações de nitrato de sódio (0,62 a 2,5 g.L⁻¹) e 30 °C temperatura do meio. Nestas condições, obtiveram biomassa com alta concentração de proteínas (57 a 60 %).

Em média, o teor de lipídeos de *A. platensis* em cultivo em minitanques foi de $18,7 \pm 2,1$ % (Gráfico 3), esta acima da faixa considerada como típica para a *Arthrospira*, que vai de 6 % a 13 % (BELAY, 2002; COHEN, 1997). Por outro lado, o valor encontrado neste ensaio está bastante abaixo de valores encontrados por Mahajan e Kamat (1995), utilizando baixas quantidades de nitrogênio, em que obtiveram biomassa com alta concentração de lipídios (45 % da biomassa seca). Por outro lado, os valores de teores lipídicos obtidos neste trabalho foram próximos aos resultados obtidos por estes autores quando eles utilizaram altas quantidades de nitrogênio, em teor de lipídeos da biomassa foi de 20 % da biomassa seca. Adicionalmente, Tanticharoen *et al.* (1994) observaram que os lipídios e ácidos graxos de *Spirulina sp.* dependem da cepa e das condições do meio ambiente.

Os conteúdos de carboidratos e cinzas médios foram de $20,0 \pm 3,6$ % e $5,4 \pm 0,3$ %, respectivamente (Gráfico 3), estando de acordo com Belay (2002), que relatou que os carboidratos constituem de 15 a 25 % e os teores de cinza podem chegar até 13 % da massa seca de *Arthrospira*.

5.2. Caracterização físico-química dos efluentes

Os efluentes obtidos ao final do processo de obtenção da biomassa de *A. platensis* em minitank foram tratados com carvão ativado em pó, e, para facilitar a eliminação de sólidos suspensos no meio, foram testados separadamente os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico em diferentes concentrações respectivamente, de acordo com o planejamento experimental estabelecido na Tabela 7, Ensaios E₁ a E₁₈. As médias de resultados referentes à caracterização físico-química desses ensaios, concernente à concentração residual de fosfato, nitrato, carbonato, quantidade de matéria orgânica (A₂₅₄) e pigmentos (A₄₄₀), bem como as porcentagens de remoção de matéria orgânica natural (R₂₅₄) e pigmentos do meio (R₄₄₀), antes e após do tratamento com carvão ativado em pó (CAP) e cloreto férrico (FeCl₃), ensaios E₁ a E₉ ou, carvão ativado em pó (CAP) e sulfato férrico (Fe₂(SO₄)₃) ensaios E₁₀ a E₁₈, estão apresentadas na Tabela 8 e Tabela 9 respectivamente.

Tabela 8. Resultados referentes à caracterização físico-química dos efluentes, antes e após do tratamento com carvão ativado em pó (CAP) e cloreto férrico (FeCl_3).

Ensaio	CAP (mg.L^{-1})	FeCl_3 (mg.L^{-1})	pH	Nitrato (g.L^{-1})	Fosfato (g.L^{-1})	Carbonato (g.L^{-1})	A_{254}^b (cm^{-1})	A_{440}^c (cm^{-1})	R_{254}^d (%)	R_{440}^e (%)
E ₀ ^a	-	-	10,6	$0,81 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,01$	$7,62 \pm 0,56$	$0,77 \pm 0,005$	$0,102 \pm 0,001$	-	-
E ₁	30	6	9,8	$0,73 \pm 0,06$	$0,15 \pm 0,02$	$5,13 \pm 0,33$	$0,41 \pm 0,004$	$0,026 \pm 0,001$	46,54	74,38
E ₂	40	6	9,8	$0,62 \pm 0,04$	$0,16 \pm 0,00$	$5,21 \pm 0,22$	$0,36 \pm 0,003$	$0,020 \pm 0,003$	53,54	80,30
E ₃	50	6	9,8	$0,56 \pm 0,05$	$0,14 \pm 0,02$	$4,74 \pm 0,22$	$0,41 \pm 0,003$	$0,021 \pm 0,001$	47,88	79,80
E ₄	30	10	9,8	$0,68 \pm 0,12$	$0,15 \pm 0,03$	$5,37 \pm 0,00$	$0,43 \pm 0,001$	$0,025 \pm 0,001$	44,92	75,37
E ₅	40	10	9,8	$0,65 \pm 0,21$	$0,13 \pm 0,02$	$5,29 \pm 0,78$	$0,43 \pm 0,002$	$0,026 \pm 0,004$	44,34	74,88
E ₆	50	10	9,8	$0,52 \pm 0,19$	$0,14 \pm 0,02$	$4,58 \pm 0,67$	$0,40 \pm 0,002$	$0,020 \pm 0,001$	48,33	80,30
E ₇	30	14	9,8	$0,70 \pm 0,10$	$0,11 \pm 0,02$	$5,45 \pm 0,33$	$0,42 \pm 0,003$	$0,016 \pm 0,002$	46,59	84,73
E ₈	40	14	9,8	$0,56 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,00$	$5,13 \pm 0,33$	$0,40 \pm 0,001$	$0,016 \pm 0,003$	49,03	84,24
E ₉	50	14	9,8	$0,54 \pm 0,16$	$0,09 \pm 0,02$	$4,81 \pm 0,56$	$0,42 \pm 0,001$	$0,018 \pm 0,002$	45,95	82,76

^a Efluente sem tratamento, ^b Absorbância a 254 nm, ^c Absorbância a 440 nm, ^d Remoção de matéria orgânica natural, ^e Remoção de pigmentos.

Tabela 9. Resultados referentes à caracterização físico-química do efluente, antes e após do tratamento com carvão ativado em pó (CAP) e sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$).

Ensaio	CAP (mg.L ⁻¹)	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (mg.L ⁻¹)	pH	Nitrato (g.L ⁻¹)	Fosfato (g.L ⁻¹)	Carbonato (g.L ⁻¹)	A ₂₅₄ ^b (cm ⁻¹)	A ₄₄₀ ^c (cm ⁻¹)	R ₂₅₄ ^d (%)	R ₄₄₀ ^e (%)
E ₀ ^a	-	-	10,6	0,81 ± 0,04	0,21 ± 0,01	7,62 ± 0,56	0,77 ± 0,001	0,102 ± 0,001	-	-
E ₁₀	30	15	9,8	0,26 ± 0,01	0,20 ± 0,02	5,45 ± 0,33	0,53 ± 0,001	0,054 ± 0,001	32,43	47,29
E ₁₁	40	15	9,8	0,35 ± 0,05	0,21 ± 0,01	5,60 ± 0,33	0,51 ± 0,001	0,056 ± 0,001	34,36	44,83
E ₁₂	50	15	9,8	0,44 ± 0,03	0,21 ± 0,01	5,60 ± 0,11	0,48 ± 0,001	0,057 ± 0,001	37,97	44,33
E ₁₃	30	25	9,9	0,41 ± 0,06	0,20 ± 0,01	5,52 ± 0,67	0,51 ± 0,002	0,055 ± 0,001	34,04	46,31
E ₁₄	40	25	9,9	0,30 ± 0,06	0,21 ± 0,01	4,58 ± 0,22	0,52 ± 0,001	0,055 ± 0,002	33,59	46,31
E ₁₅	50	25	9,9	0,53 ± 0,10	0,19 ± 0,00	4,50 ± 0,11	0,50 ± 0,001	0,057 ± 0,001	35,65	43,84
E ₁₆	30	35	9,9	0,28 ± 0,01	0,17 ± 0,02	5,21 ± 0,22	0,53 ± 0,002	0,057 ± 0,004	32,11	44,33
E ₁₇	40	35	9,8	0,40 ± 0,04	0,08 ± 0,01	5,52 ± 0,22	0,50 ± 0,003	0,048 ± 0,002	36,04	53,20
E ₁₈	50	35	9,8	0,29 ± 0,08	0,11 ± 0,01	4,26 ± 0,45	0,48 ± 0,002	0,033 ± 0,003	38,67	67,49

^a Efluente sem tratamento, ^b Absorbância a 254 nm, ^c Absorbância a 440 nm, ^d Remoção de matéria orgânica natural, ^e Remoção de pigmentos.

O resultado da caracterização do efluente sem tratamento (E_0) apresentado nas Tabelas 8 e 9, mostra que o pH final foi de 10,56. Sendo o efluente sem tratamento o meio residual do cultivo prévio, esta alcalinidade final é devida principalmente ao consumo das fontes de carbono e nitrogênio durante o processo descontínuo, com consequente liberação de carbonato e formação de hidróxidos, no meio de cultivo. Observa-se ainda que o consumo destes nutrientes foi incompleto, com concentrações residuais de nitrato de $0,81 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$; fosfato de $0,21 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ e carbonatos de $7,62 \pm 0,56 \text{ g.L}^{-1}$ após cultivo de *A. platensis*, uma vez que o meio padrão de Schlösser contém na sua composição inicial $1,82 \text{ g.L}^{-1}$ de nitrato, $0,27 \text{ g.L}^{-1}$ de fosfato e $12,6 \text{ g.L}^{-1}$ de carbonato total.

Observou-se que em todos os ensaios o valor médio pH foi reduzido para 9,8 e 9,9 (Tabela 8 e 9) após tratamento dos efluentes com CAP e diferentes concentrações dos coagulante cloreto férrico e sulfato férrico com base no planejamento experimental (Ensaio 1 a 18, Tabela 7). Esta redução do pH ocorreu provavelmente, pelo uso combinado de CAP na remoção de carbonato dos efluentes e ao uso dos compostos cloreto férrico e sulfato férrico que por si mesmo apresentam caráter ácido. Além disso, a hidrólise de sais de alguns metais pode levar à formação de acidez mineral nas águas, como ocorre nas estações de tratamento de águas para abastecimento público na etapa de coagulação, por exemplo, com cloreto férrico e sulfato férrico, que quando adicionados na água ocorre liberação de cátions metálicos, que por sua vez desencadeiam uma reação de hidrólise que resulta na produção de hidróxidos metálicos e os respectivos ácidos: ácido clorídrico e ácido sulfúrico (HOLT *et al.*, 2005), conforme indicado nas seguintes equações químicas (Equações 5 e 6)

Os hidróxidos metálicos formados são insolúveis e possuem ação coagulante sobre as partículas, precipitando-se e promovendo a floculação por varredura (DI BERNARDO, 1993).

As concentrações de nitrato observados nos ensaios E_1 a E_9 (Tabela 8) depois de feitos os tratamentos revelou uma redução de esse composto com relação à concentração inicial no efluente antes do tratamento (E_0), variando de 11,3 a 37,6 %. As máximas remoções de nitrato foram obtidas nos ensaios realizados utilizando a maior concentração de CAP (50 mg.L^{-1}), independentemente da concentração de FeCl_3 usado (Ensaio E_3 , E_6 e E_9). Estes resultados sugerem que a remoção do nitrato foi feita pelo adsorvente, e quanto maior a concentração de CAP, maior a remoção desse composto, decorrente do aumento da área superficial, pelo

aumento na dosagem. Na literatura relata-se que entre as técnicas de sorção empregadas na remoção de nitrato em solução aquosa, o carvão ativado é o mais amplamente empregado (YANG, 2003).

Possivelmente, a baixa remoção de nitrato nos demais ensaios se deve à baixa concentração de carvão ativado junto com o pH alcalino do efluente. De fato, Öztürk e Bektaş (2004) avaliaram vários parâmetros na remoção de nitrato em solução aquosa por vários materiais, entre estes, o carvão ativado em pó, e observaram que o valor de pH mais efetivo na remoção de NaNO_3 foi pH 2 para o carvão ativado em pó. Igualmente, Zanella *et al.* (2011) observaram que adsorção de nitrato via carvão ativado é dependente do pH da solução, determinando um pH 6,0 para a máxima eficiência na remoção.

Em relação aos valores de nitrato nos meios tratados com CAP e sulfato férrico (ensaios E_{10} a E_{18} , Tabela 9), observa-se que remoção foi maior que aqueles obtidos nos ensaios com CAP e cloreto férrico (Tabela 8). A maior perda foi nos ensaios E_{16} e E_{18} com valores residuais médios de $0,28 \pm 0,01$ e $0,29 \pm 0,08 \text{ g.L}^{-1}$ respectivamente. Tendo em consideração, que o ensaio E_{18} a concentração de CAP usada foi de 50 mg.L^{-1} , semelhante com os ensaios E_3 , E_6 e E_9 (Tabela 8), estes resultados confirmam que a remoção do nitrato é feita principalmente pelo CAP e que há maior remoção do nitrato quando se aplica maiores concentrações desse composto. Isso é confirmado pelo valor do nível descritivo ($p = 0,000$, Tabela 10) na análise de variância multivariada. Verifica-se também pelo teste de Tukey, considerando-se um nível de significância de 5 %, que as médias dos tratamentos com 30, 40 e 50 mg.L^{-1} de carvão ativado em pó em relação a variável dependente nitrato, apresentam diferenças significativas (Tabela 10).

Tabela 10. Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com carvão ativado em pó (CAP) utilizando três diferentes concentrações (30, 40 e 50 mg.L^{-1})

Carvão ativado em pó CAP (mg.L^{-1})	Nitrato (g.L^{-1})	Fosfato (g.L^{-1})	Carbonato (g.L^{-1})	R_{254} (%)	R_{440} (%)
30	0,508 ^{A*}	0,164 ^A	5,353 ^A	39,20 ^A	62,06 ^A
40	0,477 ^B	0,149 ^A	5,221 ^A	41,55 ^B	63,95 ^A
50	0,478 ^B	0,143 ^A	4,748 ^B	42,14 ^B	66,42 ^A
Valor p^{**}	0,000	0,071	0,004	0,002	0,090

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Os resultados obtidos para a remoção de fosfatos com uso de cloreto férrico (Ensaio E_1 a E_9 , Tabela 8) apresentaram valores que mostram uma redução na concentração deste elemento nos efluentes tratados. No entanto, os ensaios que mostraram maior redução foram os correspondentes às maiores concentrações de FeCl_3 (14 mg.L^{-1}), independentemente da concentração de CAP (Ensaio E_7 , E_8 e E_9) com valores residuais de $0,11 \pm 0,02$; $0,11 \pm 0,00$ e $0,09 \pm 0,02 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente.

De igual forma, os ensaios onde foi usado o agente coagulante sulfato férrico (Ensaio E_{10} a E_{18} , Tabela 9) observou-se maior remoção de fosfato nos ensaios onde foram empregadas concentrações elevadas de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, independente da concentração de CAP usados (Ensaio E_{16} , E_{17} a E_{18}) com valores residuais de $0,17 \pm 0,02$; $0,08 \pm 0,01$ e $0,11 \pm 0,01$, respectivamente. Este resultado mostra que a remoção de fosfato se deve principalmente ao uso dos agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico. Assim, como foi confirmado pela análise de variância multivariada, verifica-se que neste caso os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico apresentam uma influência evidente sobre a remoção do fosfato ($p = 0,001$, Tabela 11 e $p = 0,000$, Tabela 12, respectivamente).

Tabela 11. Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com o agente coagulante cloreto férrico ($FeCl_3$) utilizando três diferentes concentrações 6, 10 e 14 $mg.L^{-1}$.

Agente coagulante $FeCl_3$ ($mg.L^{-1}$)	Nitrato ($g.L^{-1}$)	Fosfato ($g.L^{-1}$)	Carbonato ($g.L^{-1}$)	R_{254} (%)	R_{440} (%)
6	0,636 ^{A*}	0,148 ^A	5,129 ^A	49,17 ^A	78,16 ^A
10	0,615 ^A	0,140 ^A	5,077 ^A	45,61 ^{AB}	76,84 ^A
14	0,598 ^A	0,103 ^B	5,024 ^A	62,95 ^B	83,90 ^B
Valor p^{**}	0,823	0,001	0,897	0,037	0,002

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Tabela 12. Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por MANOVA para os efluentes tratados com o agente coagulante sulfato férrico ($Fe_2(SO_4)_3$) utilizando três diferentes concentrações 15, 25 e 35 $mg.L^{-1}$.

Agente coagulante $Fe_2(SO_4)_3$ ($mg.L^{-1}$)	Nitrato ($g.L^{-1}$)	Fosfato ($g.L^{-1}$)	Carbonato ($g.L^{-1}$)	R_{254} (%)	R_{440} (%)
15	0,347 ^{A*}	0,205 ^A	5,550 ^A	34,62 ^A	45,48 ^A
25	0,410 ^A	0,196 ^A	4,998 ^A	34,13 ^A	45,48 ^A
35	0,320 ^A	0,120 ^B	4,866 ^A	35,31 ^A	55,00 ^B
Valor de p^{**}	0,234	0,000	0,060	0,234	0,027

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Morse *et al.* (1998) citaram que remoção de fósforo também é decorrente de precipitação química (além da remoção biológica), geralmente com sais de ferro (cloreto férrico e sulfato férrico), de alumínio (sulfato de alumínio) ou cal. Segundo Aisse *et al.* (2001), a precipitação do fosfato é conseguida pela adição de um metal, o que acarreta a

formação dos fosfatos precipitados pouco solúveis. Este metal pode ser o cálcio (Ca^{2+}), o ferro (Fe^{2+} ou Fe^{3+}) ou o alumínio (Al^{3+}).

No que concerne à remoção do carbonato, de um modo geral, o aumento de CAP levou a remoção deste nutriente em todos os ensaios (Tabela 8 e Tabela 9), como mostra os ensaios E₃, E₆, E₉, com resultados que correspondem às médias $4,74 \pm 0,22$; $4,58 \pm 0,67$ e $4,81 \pm 0,56$ g.L⁻¹ (Tabela 8) os ensaios E₁₅ e E₁₈ com valores que corresponde às médias $4,50 \pm 0,11$ e $4,26 \pm 0,45$ g.L⁻¹ (Tabela 9). A remoção deste composto foi maior com a maior concentração de CAP (50 mg.L⁻¹), sob diferentes concentrações de FeCl_3 (6, 10 e 14 mg.L⁻¹) e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (25 e 35 mg.L⁻¹). Verifica-se, neste caso, pela análise de variância multivariada, que o CAP exerce influência sobre a remoção do carbonato ($p = 0,004$, Tabela 10). Constata-se também pelo teste de Tukey, considerando-se um nível de significância de 5 %, que as médias dos tratamentos com 30, 40 e 50 mg.L⁻¹ de carvão ativado em pó em relação a variável dependente carbonato, apresentam diferenças significativas (Tabela 10). Este resultado mostra que o valor de remoção vai depender da concentração de CAP empregada.

Sabe-se que o carvão ativo pode apresentar tanto cargas negativas (aniônicas) como cargas positivas (catiônicas) para atrair íons livres em solução ou suspensão. O tratamento de carvão em meio básico incrementará a capacidade do carvão para a troca com ânions, enquanto que a acidificação das superfícies dá ao carvão um poder de trocador catiônico (JANKOWSKA *et al.*, 1991). Neste trabalho, como o meio é alcalino, presume-se que o carvão ativo atuou adsorvendo parte do carbonato (íon carbonato, CO_3^{2-}) do efluente.

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 8 e 9, com base aos dois coagulantes testados, FeCl_3 e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, os melhores ensaios para a remoção de matéria orgânica e pigmentos foram aqueles onde se empregou CAP e o coagulante cloreto férrico (E₁ a E₉, Tabela 8), com eficiências de remoção de matéria orgânica e pigmentos superiores a 44 % e 74 %, respectivamente. Dentro de este grupo de ensaios, a melhor remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) foi no ensaio E₂, com remoção de 53,5%, o que corresponde a uma concentração residual de matéria orgânica medida em absorbância a 254 nm de $0,36 \pm 0,003$ cm⁻¹. Enquanto a remoção de pigmento foi o ensaio E₇ com 84,7%, o que corresponde a uma quantidade residual pigmento medida em absorbância a 440 nm de $0,016 \pm 0,0021$ cm⁻¹. Sabe-se que no processo de tratamento de água, a remoção de compostos orgânicos é realizada com o uso de coagulantes tradicionais, como sulfato de alumínio, cloreto férrico e sulfato férrico. Também o CAP é bastante usado para remover matéria orgânica e cor, sendo adicionado na fase de mistura rápida, junto com os coagulantes, e se instala a etapa de sedimentação (USEPA, 1998; ZHAN *et al.*, 2010).

Verifica-se, neste caso, que tanto o agente coagulante cloreto férrico como o CAP exercem influência na remoção de matéria orgânica, como confirmado pela análise variância multivariada ($p = 0,037$, Tabela 11; $p = 0,002$, Tabela 10, respectivamente). Por outro lado, a análise de variância multivariada revelou que ambos coagulantes, cloreto férrico e sulfato férrico, exercem influência na remoção de pigmentos ($p = 0,002$, Tabela 11; $p = 0,027$, Tabela 12, respectivamente). Adicionalmente, as diferenças significativas entre as concentrações de coagulantes empregadas na remoção de pigmentos, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância (Tabelas 11 e 12), indicam que as maiores concentrações de coagulantes empregadas levaram a maiores remoções de pigmento, como se observa nas Tabelas 8 e 9. Resultados semelhantes foram obtidos por Vaz de Lima *et al.* (2010), que avaliaram a eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. Observaram que utilizando o coagulante cloreto férrico, na concentração de 40 ppm, obteve-se uma remoção de cor e turbidez de 31,57 e 95,27 %, respectivamente. Lalezary *et al.* (1986) avaliaram o uso de carvão ativado na remoção de cinco compostos orgânicos causadores de gosto e odor, que ocorrem ao nível de nanogramas por litro (ng.L^{-1}) na água de abastecimento, e verificaram que tanto o carbono ativado em pó (CAP) como o carvão ativado granular (CAG) provaram ser eficazes na remoção de dois compostos, o 2-metilisoborneol (MIB) e geosmina.

De um modo geral, do ponto de vista físico-químico, as melhores condições para não haver perda de nitrato, carbonato e fosfato e proporcionar maior remoção de matéria orgânica e pigmentos nos efluentes seria o uso da concentração de 40 mg.L^{-1} de CAP, com uma perda de 6,1 % de nitrato em relação ao uso de 30 mg.L^{-1} (Tabela 10). Com relação ao FeCl_3 , a melhor concentração para ser utilizada seria de 10 mg.L^{-1} . Embora o aumento da concentração de FeCl_3 para 14 mg.L^{-1} tenha levado a um aumento da remoção de pigmentos (R_{440}), levou a um incremento de 26,4 % na perda de fosfato (Tabela 11). Com uso de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ como agente coagulante, tendo em vista os resultados praticamente equivalentes para todas as condições estudadas, a melhor condição seria de 15 mg.L^{-1} (Tabela 12). A análise de variância (ANOVA) mostrou que todas as respostas foram significativamente influenciadas pelo tipo de ensaio utilizado (Tabela 13). Os valores de remoção de absorbância a 254 e 440 nm foram estatisticamente maiores quando se empregou cloreto férrico em relação ao efluente sem tratamento, os quais foram confirmados pela análise estatística (Tabela 13). A avaliação desta mesma tabela permite concluir que a remoção de matéria orgânica e pigmentos foi maior com o uso de cloreto férrico em vez de sulfato férrico, que, porém, se mostrou também eficiente para a remoção de matéria orgânica e pigmentos do meio residual do cultivo de *A. platensis*.

No entanto, em todos os tratamentos houve uma perda de nutrientes, de modo que os nutrientes removidos teriam ser aproveitados para outros fins, como fertilizantes, por exemplo (CARVALHO *et al.*, 2010).

Tabela13. Valores médios dos parâmetros físico-químicos referentes às concentrações residuais de nitrato, fosfato, carbonato, remoção de matéria orgânica natural (R_{254}) e remoção de pigmentos (R_{440}), obtidos por ANOVA para os efluentes, em três diferentes ensaios (efluente sem tratamento, EST; efluentes tratados com cloreto férrico ETC; efluentes tratados com sulfato férrico, ETS).

Ensaio	Nitrato (g.L-1)	Fosfato (g.L-1)	Carbonato (g.L-1)	R_{254} (%)	R_{440} (%)
EST	0,815 ^{A*}	0,212 ^A	7,620 ^A	00,000 ^A	00,000 ^A
ETC	0,616 ^B	0,130 ^B	5,139 ^B	47,246 ^C	79,639 ^C
ETS	0,359 ^C	0,174 ^A	5,077 ^B	34,691 ^B	48,660 ^B
Valor p^{**}	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância com um fator (ANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Enfim, os resultados apresentados indicam que a utilização combinada de agentes coagulantes e carvão ativado podem levar a resultados satisfatórios no tratamento de meios que possam se reutilizados em novos cultivos de micro-organismos fotossintetizantes. Desse modo, no sub-item a seguir foi avaliado a possibilidade de reuso dos meios obtidos após os tratamentos.

5.3. Cultivos de *A. platensis* nos meios tratados

Após o tratamento dos efluentes com carvão ativado em pó (30, 40 e 50 mg.L⁻¹) e cloreto férrico (6, 10 e 14 mg.L⁻¹) ou sulfato férrico (15, 25 e 35 mg.L⁻¹), de acordo com o planejamento experimental (Ensaio E₁ a E₁₈, Tabela 7), os mesmos foram reaproveitados em novos cultivos de *A. platensis*, verificando-se a influência das diferentes condições de tratamentos do meio residual sobre as condições de crescimento e composições das biomassas obtidas.

De acordo com o planejamento experimental desta etapa, foram realizados um total de 19 cultivos de *A. platensis*, distribuídos da seguinte maneira: ensaios E₁ a E₉, cultivos feitos nos meios tratados com CAP e cloreto férrico; ensaios E₁₀ a E₁₈, cultivos feitos nos meios tratados com CAP e sulfato férrico. Todos os cultivos foram feitos em processo descontínuo, em frascos Erlenmeyer de 1000 mL contendo 600 mL do meio tratado e suplementado com nitrato de sódio (2,5 g.L⁻¹) como fonte de nitrogênio. Também foi realizado um cultivo controle (Ct), usando meio padrão de Schlösser (meio novo).

Os resultados obtidos do acompanhamento dos cultivos, feitos em dias alternados, referentes à concentração celular estão apresentados nos Gráficos 4 e 5. Os valores de concentração celular máxima (X_m), produtividade em célula (P_x) e pH final, são apresentados na Tabela 14.

Tendo em vista que os componentes da biomassa de vários micro-organismos fotossintetizantes como *A. platensis* dependem de fatores nutricionais e ambientais (OLGUÍN *et al.*, 2001) foi importante essa avaliação nas diferentes condições experimentais. Ao final de cada cultivo, a biomassa resultante foi levada à estufa para secagem, para posterior análise dos teores de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, que são apresentados na Tabela 15.

Após o reuso de meios de cultivos foram avaliados os conteúdos de nitrato, fosfato e carbonato do meio residual (Tabela 16), para verificar o consumo desses nutrientes por *A. platensis*.

Gráfico 4. Concentrações celulares (mg.L⁻¹) em função do tempo (dias) nos cultivos de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratados com CAP e o agente coagulante cloreto férrico (Ensaio E₁ a E₉, Tabela 7), suplementados com nitrato de sódio, bem como ensaio com meio de Schlösser (Ct) (meio novo).

Gráfico 5. Concentrações celulares (mg.L⁻¹) em função do tempo (dias) nos cultivos de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratados com CAP e o agente coagulante sulfato férrico (Ensaio E₁₀ a E₁₈, Tabela 7), suplementados com nitrato de sódio, bem como ensaio com meio de Schlösser (Ct) (meio novo).

Tabela 14. Concentração celular máxima (X_m), produtividade em células (P_x) e valor de pH final, obtidos dos cultivos de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratado com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico, suplementados com nitrato de sódio, bem como experimentos com meio de Schlösser (Ct).

Ensaio	Meios tratados			pH final	X_m (mg.L ⁻¹)	P_x (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)
	CAP (mg.L ⁻¹)	FeCl ₃ (mg.L ⁻¹)	Fe ₂ (SO ₄) ₃ (mg.L ⁻¹)			
E ₁	30	6	-	10,4 ± 0,02	1093 ± 16,43	130,6
E ₂	40	6	-	10,6 ± 0,00	991 ± 26,42	117,8
E ₃	50	6	-	10,6 ± 0,02	960 ± 14,96	113,4
E ₄	30	10	-	10,5 ± 0,04	730 ± 19,05	84,8
E ₅	40	10	-	10,5 ± 0,01	806 ± 10,28	94,4
E ₆	50	10	-	10,6 ± 0,03	643 ± 16,54	73,7
E ₇	30	14	-	10,7 ± 0,04	841 ± 26,26	97,8
E ₈	40	14	-	10,4 ± 0,05	880 ± 20,74	103,6
E ₉	50	14	-	10,7 ± 0,01	998 ± 12,12	117,9
E ₁₀	30	-	15	10,6 ± 0,05	796 ± 21,09	92,6
E ₁₁	40	-	15	10,6 ± 0,04	806 ± 16,63	94,2
E ₁₂	50	-	15	10,6 ± 0,01	718 ± 18,67	83,5
E ₁₃	30	-	25	10,4 ± 0,04	551 ± 24,06	62,6
E ₁₄	40	-	25	10,4 ± 0,01	627 ± 20,39	72,1
E ₁₅	50	-	25	10,4 ± 0,04	577 ± 9,14	66,0
E ₁₆	30	-	35	10,4 ± 0,01	557 ± 21,47	63,3
E ₁₇	40	-	35	10,5 ± 0,04	513 ± 20,90	57,7
E ₁₈	50	-	35	10,6 ± 0,01	597 ± 30,65	68,3
Ct	-	-	-	10,2 ± 0,01	1023 ± 10,68	121,5

Tabela 15. Conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas, obtidos da biomassa seca de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratados com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico, suplementados com nitrato de sódio, bem como experimentos com meio de Schlösser (Ct).

Ensaio	Meios tratados			Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
	CAP	FeCl ₃ (mg.L ⁻¹)	Fe ₂ (SO ₄) ₃ (mg.L ⁻¹)				
E ₁	30	6	-	54,3 ± 6,8	18,9 ± 2,5	18,1 ± 2,5	8,7 ± 1,8
E ₂	40	6	-	50,3 ± 3,2	22,2 ± 5,3	19,6 ± 8,3	7,8 ± 0,2
E ₃	50	6	-	58,7 ± 3,5	17,4 ± 2,8	15,9 ± 1,7	7,9 ± 1,0
E ₄	30	10	-	50,7 ± 7,5	20,2 ± 7,9	22,4 ± 0,3	6,7 ± 0,1
E ₅	40	10	-	46,7 ± 6,6	20,2 ± 1,9	26,2 ± 8,1	6,8 ± 0,3
E ₆	50	10	-	44,8 ± 1,4	23,8 ± 2,5	23,4 ± 4,2	8,1 ± 0,3
E ₇	30	14	-	38,8 ± 1,8	23,0 ± 3,7	29,9 ± 1,7	8,3 ± 0,1
E ₈	40	14	-	40,1 ± 2,0	22,5 ± 1,2	29,7 ± 3,3	7,7 ± 0,1
E ₉	50	14	-	38,7 ± 3,1	22,1 ± 1,2	31,6 ± 4,5	7,6 ± 0,2
E ₁₀	30	-	15	38,9 ± 2,5	17,7 ± 1,7	36,0 ± 1,2	7,4 ± 0,4
E ₁₁	40	-	15	39,2 ± 1,1	21,7 ± 2,3	31,9 ± 3,1	7,3 ± 0,3
E ₁₂	50	-	15	36,7 ± 2,3	18,1 ± 1,8	37,6 ± 0,8	7,6 ± 0,3
E ₁₃	30	-	25	38,2 ± 1,5	17,5 ± 3,0	36,9 ± 4,4	7,4 ± 0,2
E ₁₄	40	-	25	37,9 ± 1,2	18,7 ± 5,1	36,0 ± 6,3	7,5 ± 0,0
E ₁₅	50	-	25	34,2 ± 3,7	20,1 ± 3,0	37,8 ± 0,9	7,8 ± 0,2
E ₁₆	30	-	35	36,6 ± 4,4	25,0 ± 1,0	29,1 ± 6,2	9,3 ± 0,8
E ₁₇	40	-	35	40,7 ± 5,8	17,4 ± 2,1	33,7 ± 8,4	8,1 ± 0,5
E ₁₈	50	-	35	43,6 ± 7,1	22,2 ± 3,1	26,7 ± 4,2	7,6 ± 0,2
Ct	-	-	-	51,9 ± 6,5	18,8 ± 3,2	20,8 ± 3,0	8,5 ± 0,3

Levando em consideração que o reuso de meio de cultura objetiva a obtenção de biomassa útil reaproveitável, redução de custo pelo reuso de nutrientes e por sua vez evitar problemas ambientais, foram analisados as concentrações de nitratos, fosfatos e carbonatos no meio de reuso após cultivos e apresentados na Tabela 16. Observou-se que a concentração de nitrato, foi reduzida após cultivo, embora a fonte de nitrogênio tenha sido adicionada no meio de cultivo após os tratamentos com carvão ativo e os agentes coagulantes. Essa queda de concentração de nitrato foi decorrente do crescimento celular. A suplementação feita aos meios tratados com nitrato de sódio é necessária dado que a deficiência de nitrogênio durante o período de crescimento leva a um decréscimo na produção de ficocianina e clorofila, podendo afetar também a composição dos ácidos graxos (FUNTEU *et al.*, 1997). Ademais o uso de nitrato garante altas concentrações de biomassa com alto valor proteico (RODRIGUES *et al.*, 2011). Concentrações de fosfato foram reduzidas após cultivos de *A. platensis* nos meios tratados a valores que chegaram até 0,04 g.L⁻¹, o que representou um grande consumo, levando em consideração que algum cultivos iniciaram com concentrações 0,21 g.L⁻¹, que é um valor bastante próximo do meio de cultivo padrão (0,27 g.L⁻¹). Pensando num próximo reciclo de meio, esse dado é um indicativo que provavelmente seria necessário uma complementação deste nutriente. Em quanto ao valor de carbonato, também se observou uma redução significativa até 2,21 g.L⁻¹, indicando que para novo reuso de meio este nutriente também tenha que ter sua concentração restabelecida para os valores do meio padrão. Em suma, os resultados apresentados indicam que *A. platensis* consumiu os nutrientes residuais durante os cultivos nos meios tratados. Embora, o meio residual apresente concentrações residuais baixas desses nutrientes e de outras substâncias não analisadas, ainda há presença de sais em sua composição, o que não permite sua liberação ao meio ambiente. Isso reforça a necessidade de reuso dos meios de cultivos.

Tabela 16. Concentração de nitrato, fosfato e carbonato residual obtidos dos cultivos de *Arthrospira platensis*, realizados por processo descontínuo em frascos Erlenmeyer usando os meios tratados com CAP e os agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico e suplementados com nitrato de sódio.

Ensaio	Meios tratados			Nitrato (g.L ⁻¹)	Fosfato (g.L ⁻¹)	Carbonato (g.L ⁻¹)
	CAP (mg.L ⁻¹)	FeCl ₃ (mg.L ⁻¹)	Fe ₂ (SO ₄) ₃ (mg.L ⁻¹)			
E ₁	30	6	-	0,33 ± 0,19	0,05 ± 0,02	2,84 ± 0,67
E ₂	40	6	-	0,37 ± 0,07	0,07 ± 0,02	3,87 ± 0,26
E ₃	50	6	-	0,34 ± 0,08	0,06 ± 0,03	2,21 ± 0,98
E ₄	30	10	-	0,39 ± 0,19	0,07 ± 0,01	3,39 ± 0,54
E ₅	40	10	-	0,30 ± 0,15	0,08 ± 0,02	3,31 ± 0,89
E ₆	50	10	-	0,29 ± 0,12	0,08 ± 0,03	3,16 ± 0,96
E ₇	30	14	-	0,42 ± 0,17	0,07 ± 0,01	3,16 ± 0,89
E ₈	40	14	-	0,36 ± 0,06	0,06 ± 0,00	2,84 ± 0,66
E ₉	50	14	-	0,25 ± 0,02	0,05 ± 0,00	2,45 ± 0,78
E ₁₀	30	-	15	0,32 ± 0,05	0,05 ± 0,01	3,63 ± 0,45
E ₁₁	40	-	15	0,38 ± 0,08	0,10 ± 0,01	3,08 ± 0,94
E ₁₂	50	-	15	0,28 ± 0,10	0,07 ± 0,01	3,24 ± 0,96
E ₁₃	30	-	25	0,45 ± 0,25	0,08 ± 0,03	2,60 ± 0,86
E ₁₄	40	-	25	0,29 ± 0,07	0,06 ± 0,01	3,16 ± 0,22
E ₁₅	50	-	25	0,39 ± 0,19	0,08 ± 0,02	3,00 ± 0,67
E ₁₆	30	-	35	0,20 ± 0,06	0,06 ± 0,00	3,08 ± 0,57
E ₁₇	40	-	35	0,38 ± 0,09	0,09 ± 0,01	2,37 ± 0,11
E ₁₈	50	-	35	0,28 ± 0,07	0,04 ± 0,01	2,60 ± 0,45

Os cultivos foram iniciados com valores de pH 9,8 a 9,9 e, como esperado, ocorreu um aumento do valor do pH, acompanhado do crescimento celular. O aumento do pH é consequência da conversão externa do ânion HCO_3^- presente no bicarbonato, em CO_2 , mais hidróxido (OH^-) durante a fotossíntese pelas células com alta afinidade pela captação do CO_2 (SHIRAIWA *et al.*, 1993). O pH obtido ao final de todos os cultivos não teve uma variação tão grande em cada uns dos ensaios, pH 10,4 a 10,7 (Tabela 14). Segundo Whitton (1992), ao consumir os carbonatos e bicarbonatos do meio, *Arthrospira* aumenta a alcalinidade do líquido, chegando num pH de até 11,5.

Todos os ensaios (Gráficos 4 e 5 e Tabela 14) foram iniciados com processo descontínuo, com concentrações celulares iniciais de $50 \pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e após 8 dias foram atingidas concentrações celulares máximas que variaram entre $513 \pm 20,90$ a $1093 \pm 16,43 \text{ mg.L}^{-1}$, sendo este último o melhor resultado, o que resultou em uma produtividade em células igual a $130,6 \text{ mg.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$, obtida no ensaio E₁, que se refere ao efluente reutilizado tratado com concentrações de 30 mg.L^{-1} de CAP e 6 mg.L^{-1} de FeCl_3 . Considerando-se um nível de significância de 5 %, verificou-se, neste caso, que os dois agentes coagulantes cloreto férrico e sulfato férrico apresentam uma influência sobre a concentração celular máxima e produtividade em célula ($p = 0,000$ para ambas variáveis, Tabelas 17 e 18, respectivamente). No entanto, nos cultivos realizados nos efluentes previamente tratados com CAP (30, 40 e 50 mg.L^{-1}) e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (15, 25 e 35 mg.L^{-1}) observou-se que a concentração celular máxima e a produtividade em células, de um modo geral, foram menores que as dos cultivos realizados nos meios tratados com cloreto férrico e o controle (Gráficos 4 e 5 e Tabela 14).

Tabela 17. Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular, referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_x ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com o agente coagulante cloreto férrico ($FeCl_3$) utilizando três diferentes concentrações 6, 10 e 14 $mg.L^{-1}$.

Agente coagulante $FeCl_3$ ($mg.L^{-1}$)	X_m ($mg.L^{-1}$)	P_x ($mg.L.d^{-1}$)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
6	1014,98 ^{A*}	120,58 ^A	54,44 ^A	19,50 ^A	17,89 ^A	8,15 ^A
10	726,28 ^B	84,32 ^B	47,36 ^B	21,40 ^A	24,01 ^A	7,20 ^A
14	906,05 ^A	106,42 ^A	39,19 ^C	22,54 ^A	30,37 ^B	7,87 ^A
Valor p^{**}	0,000	0,000	0,000	0,368	0,001	0,134

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Tabela 18. Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_x ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com o agente coagulante sulfato férrico ($Fe_2(SO_4)_3$) utilizando três diferentes concentrações 15, 25 e 35 $mg.L^{-1}$.

Agente coagulante $Fe_2(SO_4)_3$ ($mg.L^{-1}$)	X_m ($mg.L^{-1}$)	P_x ($mg.L.d^{-1}$)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
15	773,28 ^A	90,11 ^A	38,27 ^A	19,14 ^A	35,15 ^A	7,42 ^A
25	585,14 ^B	66,89 ^B	36,75 ^A	18,77 ^A	36,89 ^A	7,57 ^{AB}
35	555,70 ^B	63,11 ^B	40,30 ^A	21,52 ^A	29,82 ^A	8,34 ^B
Valor de p^{**}	0,000	0,000	0,327	0,350	0,055	0,036

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

Verificou-se que os valores médios X_m e P_X dos cultivos feitos no efluente tratados com cloreto férrico não diferem estatisticamente com o controle, pelo teste de Tukey (5 % de significância). Porém, os cultivos feitos nos meios tratados com sulfato férrico apresentaram menor crescimento que os cultivos controle. Tendo em conta que o tratamento do meio com sulfato férrico removeu menor quantidade de fosfato do meio de cultivo que o tratamento com uso de cloreto férrico (Tabela 13), e levando-se em conta que em todos os ensaios não houve qualquer tipo de limitação por nitrogênio, pois todos os meios tratados foram suplementados com a fonte de nitrogênio. O menor crescimento observado com uso de sulfato férrico deve-se provavelmente à menor remoção de matéria orgânica e pigmentos do meio residual (Tabela 13), não podendo ser descartada também a remoção de elementos que poderiam ter precipitado pelo ânion sulfato. Portanto, a reutilização de efluentes para o cultivo de *A. platensis* após tratamento com cloreto férrico permitiu a obtenção de resultados bastante satisfatórios com o uso de nitrato de sódio como fonte de nitrogênio.

Conforme os resultados correspondentes aos conteúdos de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas da biomassa seca de *Arthrospira platensis*, obtidos nos ensaios E_1 a E_{18} e o experimento controle (Ct), apresentados na Tabela 15, observa-se que, em média, foram obtidos altos teores de proteínas nas biomassas secas, com valores da ordem de até 59 %. Os maiores teores de proteínas foram, em ordem decrescente, nos ensaios E_3 , E_1 , E_4 e E_2 , com valores médios de $58,7 \pm 3,5$; $54,3 \pm 6,8$; $50,7 \pm 7,5$ e $50,3 \pm 3,2$ %, respectivamente (Tabela 15). O que corresponde aos cultivos feitos nos meios tratados com CAP (30, 40 e 50 mg.L^{-1}) e FeCl_3 (6 e 10 mg.L^{-1}).

Verificou-se pela análise de variância multivariada apresentada na Tabela 17 ($p = 0,000$) que os teores de proteínas nas biomassas obtidas nos crescimentos celulares provenientes de meios tratados com cloreto férrico foram decrescentes com o aumento desta variável. De fato, com uso de 6 mg.L^{-1} de cloreto férrico, o teor protéico da biomassa foi o maior encontrado. Estes teores de proteína são similares ao padrão reportado para *A. platensis* 50 - 70 % (MORIST *et al.*, 2001). Por outro lado, o conteúdo de proteínas da biomassa obtida dos cultivos feitos nos meios previamente tratados com CAP (30, 40 e 50 mg.L^{-1}) e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (15, 25 e 35 mg.L^{-1}) mostraram baixo conteúdo de proteína com relação à literatura e aos ensaios referidos anteriormente.

Os conteúdos de lipídios das biomassas secas obtidas dos cultivos feitos nos efluentes tratados com CAP e os coagulantes FeCl_3 e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, estiveram na faixa de 17,4 a 25,0 % (Tabela 15). Embora tenha sido reportado *A. platensis* como uma cianobactéria com baixo conteúdo de lipídios (6-13 %) (VONSHAK, 2002), estatisticamente não foram verificadas

diferenças significativas entre médias dos ensaios com cloreto férrico e sulfato férrico e o controle (Tabela 19). Valores mais elevados (até 30 %) do teor de lipídios também foram relatados (RODRIGUES *et al.*, 2011). Além disso, relata-se que o acúmulo de lipídios e/ou carboidratos na cianobactéria *Anabaena flos-aquae* é elevada por deficiência de fósforo (DEAN *et al.*, 2008). No entanto, no presente estudo não há evidências que uma limitação por fósforo tenha aumentado o conteúdo de lipídios da *A. platensis* utilizada neste trabalho, pois os valores obtidos foram estatisticamente iguais ao experimento controle, no qual não há limitação deste nutriente.

Tabela 19. Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_x ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por ANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados em três diferentes ensaios (efluentes tratados com cloreto férrico, ETC; efluentes tratados com sulfato férrico, ETS e controle).

Ensaios	X_m (mg.L ⁻¹)	P_x (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
Controle	1023,2 ^{A*}	121,53 ^A	51,86 ^A	18,82 ^A	20,83 ^A	8,48 ^A
ETC	882,4 ^A	103,78 ^A	47,00 ^A	21,15 ^A	24,10 ^A	7,74 ^A
ETS	638,0 ^B	73,37 ^B	38,44 ^B	19,81 ^A	33,96 ^B	7,78 ^A
Valor de <i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,396	0,000	0,416

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor *p* (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância com um fator (ANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança > 95%).

Os teores de carboidratos nas biomassas que cresceram nos meios tratados ficaram entre 15,9 e 37,8 % (Tabela 15). Os conteúdos de carboidratos nas biomassas tiveram uma tendência a aumentar naqueles cultivos feitos nos meios tratados com o uso combinado de CAP e Fe₂(SO₄)₃. De fato, foram verificadas diferenças significativas das médias desses ensaios tanto em relação aos resultados obtidos com os cultivos controle e com tratamento com cloreto férrico ($p < 0,05$, Tabela 19). Isso indica que os cultivos em meios tratados com o sulfato férrico possibilitaram maior obtenção de carboidratos que aqueles realizados em meio padrão de Schlösser. Os carboidratos constituem de 15 a 25 % da massa seca de *Arthrospira*. (BELAY, 2002), sendo, portanto, um pouco menores que os obtidos neste trabalho.

Os teores de cinzas (Tabela 15) obtidos das biomassas dos ensaios E₁ a E₁₈ variaram de 6,7 a 9,3 %, estando na faixa estabelecida por Belay (1997), que relata que esta fração pode

chegar até 13 %. As condições experimentais em que foram feitos os cultivos não influenciaram no conteúdo de cinzas da biomassa. Isso foi verificado pela análise de variância, Tabela 19 ($p = 0,416$).

Considerando que os teores de cinzas e lipídios não variaram em função dos agentes coagulantes usados, observa-se que a diminuição do teor protéico da biomassa com uso de sulfato férrico está associado com um aumento do teor de carboidrato da mesma.

Por outro lado, o carvão ativado em pó não influenciou nenhum parâmetro de crescimento ou de composição de biomassa (Tabela 20).

Tabela 20. Valores médios dos parâmetros cinéticos e de composição celular referentes à concentração celular máxima, X_m ; produtividade em celular, P_x ; conteúdos de proteínas, lipídeos, carboidratos e cinzas, obtidos por MANOVA para os cultivos feitos nos efluentes tratados com carvão ativado em pó (CAP) utilizando três diferentes concentrações 30, 40 e 50 mg.L⁻¹.

CAP (mg.L ⁻¹)	X_m (mg.L ⁻¹)	P_x (mg.L ⁻¹ .d ⁻¹)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%)	Cinzas (%)
30	761,28 ^{A*}	88,62 ^A	42,90 ^A	20,37 ^A	28,73 ^A	7,98 ^A
40	770,69 ^A	89,96 ^A	42,48 ^A	20,44 ^A	29,52 ^A	7,76 ^A
50	748,74 ^A	87,13 ^A	42,78 ^A	20,62 ^A	28,83 ^A	7,54 ^A
Valor p^{**}	0,668	0,659	0,970	0,984	0,887	0,289

* Médias seguidas de mesma letra maiúscula na mesma coluna não diferem entre si, a 5% de significância pelo teste de Tukey.

** Valor p (nível descritivo) foi obtido pelo análise de variância multivariada (MANOVA), sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (nível de confiança $> 95\%$).

6. CONCLUSÕES

Este trabalho, que visou ao reaproveitamento de meio de cultivo de *Arthrospira platensis* proveniente de crescimento celular em fotobiorreator aberto com nitrato de sódio como fonte de nitrogênio, avaliou o efeito do carvão ativado em pó (CAP) e dos agentes coagulantes cloreto férrico ou sulfato férrico no tratamento de meio de cultivo já utilizado, evidenciou que esta prática é possível.

De um modo geral, as melhores condições para não haver perda de nitrato, carbonato e fosfato e proporcionar maior remoção de matéria orgânica e pigmentos nos efluentes seria o uso da concentração de 40 mg.L⁻¹ de CAP, com uma perda de 6,1 % de nitrato em relação ao uso de 30 mg.L⁻¹.

Com relação ao FeCl₃, a melhor concentração para ser utilizada seria de 10 mg.L⁻¹. Embora o aumento da concentração de FeCl₃ para 14 mg.L⁻¹ tenha levado a um aumento da remoção de pigmentos (R₄₄₀), levou a um incremento de 26,4 % na perda de fosfato.

Com uso de Fe₂(SO₄)₃ como agente coagulante, tendo em vista os resultados praticamente equivalentes para todas as condições estudadas, a melhor condição seria de 15 mg.L⁻¹.

Numa análise envolvendo o CAP e os agentes coagulantes, o uso de 30 mg.L⁻¹ de carvão ativado em pó (CAP) e 6 mg.L⁻¹ de cloreto férrico no tratamento de efluente proveniente do cultivos de *A. platensis* em meio Schlösser foi o que levou a menores perdas de nutrientes do meio de cultivo, com valores residuais de nitrato, fosfato e carbonato, após o tratamento, da mesma ordem de grandeza que no meio não tratado.

De um modo geral, o aumento da CAP e agentes coagulantes levaram a uma maior remoção de carbonato e fosfato no meio de cultivo tratado, respectivamente.

A combinação de coagulação e adsorção permitem a remoção de matéria orgânica e pigmentos dos meios obtidos do cultivo de *A. platensis*. O processo aumenta sua eficiência de remoção quando o carvão ativado em pó é empregado em combinação com o agente coagulante cloreto férrico, em comparação com o coagulante sulfato férrico.

O reuso de meio no cultivo de *A. platensis* mostrou resultados aceitáveis, observando-se que o crescimento desta cianobactéria foi satisfatório, com obtenção de concentração celular máxima obtida de 1093 mg.L⁻¹ em frasco Erlenmeyer, correspondente ao ensaio com meio tratado com 30 mg.L⁻¹ de carvão ativado em pó (CAP) e 6 mg.L⁻¹ de cloreto férrico. Esses resultados de crescimento celular foram maiores que aqueles oriundos de tratamento

com sulfato férrico como agente coagulante, cujos valores de concentração celulares máximas não excederam 806 mg.L^{-1} .

Nas condições ótimas de crescimento celular, utilizando meio tratado com 30 mg.L^{-1} de carvão ativado em pó (CAP) e 6 mg.L^{-1} de cloreto férrico o teor de proteínas na biomassa foi de 54,3 %, estando dentro da faixa considerada padrão para a *A. platensis*.

Os teores de lipídios não foram dependentes das condições de tratamento de meio, independente do agente coagulante utilizado.

O reuso de meio pode ser viável para a produção de biomassa de *A. platensis*, reduzindo o custo de produção pelo reuso dos nutrientes.

7. REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12772**. Água-Determinação de fósforo, p 3-5. Rio de Janeiro. 1992.
- AISSE, M. M.; JÜRGENSEN, D.; REALI, M. A., PENETRA, R. G., FLORENCIO, L. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por sistemas de flotação**. Belo Horizonte: Projeto PROSAB, p. 333-376, 2001.
- ALGAE BASE. **World-wide electronic publication**, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <<http://www.algaebase.org>>. acesso em: 28 Jul. 2014.
- AOAC Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 14 ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141 p.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 18th ed. Washington, D. C., 1998.
- BAÇAOU, A., YAACOU, A., DAHBI, A., BENNOUNA, C., PHAN TAN LUU, R., MALDONADO-HODAR, F. J. **Optimization of conditions for the preparation of activated carbons olive- waste cakes**. *Carbon*, v. 39, p. 425-432, 2001.
- BALLONI, W.; TOMASELLI, L.; GIOVANNETTI, L.; MARGHERI, M. C. **Biologia fondamentale del genere *Spirulina***. In: Atti del Convegno: Prospettive della coltura di *Spirulina* in Italia, p. 49 - 82, 1980.
- BECKER, E. W. Algae mass cultivation – production and utilization. **Processes in Biochemistry**, v. 16, n. 5, p. 10 - 14, 1981.
- BELAY, A. **Mass culture of *Spirulina* outdoors-the earthrise farms experience**. In: VONSHAK, A., ed. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis, p.131-158, 1997.
- BELAY, A. The Potential Application of *Spirulina* as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. **Journal of the American nutraceutical association**, v. 5, n. 2, 2002.
- BERRY, S.; BOLYCHEVTSEVA, Y. V.; ROGNER, M.; KARAPETYAN, N. V. Photosynthetic and respiratory electron transport in the alkaliphilic cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. **Photosynthesis research**, v. 78, n. 1, p. 67-76, 2003.
- BRANDÃO, C. C. S., SILVA, A. S. **Remoção de Cianotoxinas por Adsorção em Carvão Ativado**. In: PÁDUA, V. L. Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e micro-contaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano. Rio de Janeiro: ABES, 2006. Capítulo 10, p. 415-465.
- BRAZ, R.; PIRRA, A.; LUCAS, M. S.; PERES, J. A.. Combination of long term aerated storage and chemical coagulation/flocculation to winery wastewater treatment. **Desalination**, v. 263, n. 1, p. 226-232, 2010.

- CARERI, M.; FURLATTINI, L.; MANGIA, A.; MUSC, M.; ANKLAM, E.; THEOBALD, A.; VON HOLST C. Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in *Spirulina* pacifica algae: a chemometric approach. **Journal of Chromatography**, v. 912, n. 1, p. 61 - 71, 2001.
- CARVALHO, J. C. M. **Contribuição ao estudo dos processos descontínuo e descontínuo alimentado de fermentação alcoólica**. 1994. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- CARVALHO, J. C. M.; FRANCISCO, F. R.; ALMEIDA, K. A.; SATO, S.; CONVERTI, A. Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* by fed-batch addition of ammonium chloride at exponentially-increasing feeding rate. **Journal of Phycology**, v. 40, p. 589–597, 2004.
- CARVALHO, J. C. M.; SATO, S.; MOROCHO-JÁCOME, A. L. **Método de reaproveitamento de efluente a partir do cultivo de microrganismos fotossintetizantes, usos do método de reaproveitamento e usos do material orgânico reaproveitado**. Protocolada no INPI com N° 018100034532 em 16 de setembro de 2010.
- CASTENHOLZ, R. W. Subsection III, order oscillatoriales. In: WILLIAM S. T.; SHARP, E.; HOLT, J. G.; STALEY, J. T., eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: William and Wilkins, v. 3, p. 1771, 1989.
- CHAMORRO, G.; SALAZAR, M.; ARAUJO, K. G.; DOS SANTOS, C. P.; CEBALLOS, G.; CASTILLO, L. F. Actualización en la farmacología de *Spirulina* (*Arthrospira*), um alimento no convencional. [Update on the pharmacology of *Spirulina* (*Arthrospira*), na unconventional food] **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 52, n. 3, p. 232 - 240, 2002.
- CHEREMISINOFF, N. P. An Overview of Water and Wastewater Treatment. in: **Handbook of water and wastewater treatment technologies**. Butterworth-Heinemann, p. 1-61, 2002.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae, **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 294-306, 2007.
- CIFERRI, O. "Spirulina, the Edible Microorganism," **Microbiological Reviews**, vol. 47, n. 4, p. 551 - 578, 1983.
- CIFERRI, O.; TIBONI, O. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. **Annual Review of Microbiology**, v. 39, p. 503-526, 1985.
- COHEN, Z. The chemical of *Spirulina*. In: VONSHAK, A., ed. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): **physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor and Francis, p. 175 - 204, 1997.
- COHEN, Z. V.; NORMANN, H. A.; HEIMER, Y. Potential Use of Substituted Pyridazinones for Selecting Polyunsaturated Fatty Acid Overproducing Cell Lines of Algae, **Phytochemistry**, v. 33, n. 2, p. 259 - 264, 1993.

- COLLA, L. M.; OLIVEIRA REINEHR, C.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource technology**, v. 98, n. 7, p. 1489-1493, 2007.
- CORBITT, R. A. **Standard handbook of environmental engineering**. 2ed. New York: McGraw-Hill, p 5-82. 1998.
- CORNET, J. F.; DUSSAP, C. G.; GROS, J. B. Kinetics and energetics of photosynthetic microorganisms in photobioreactors. Application to *Spirulina* growth. **Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology**, v. 59, p. 155 - 223, 1998.
- CORNET, J. F.; DUSSAP, C. G.; CLUZEL, P.; DUBERTRET, G. A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: II. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 40, p. 826-834, 1992.
- DANESI, E. D. G. **Cultivo de Spirulina platensis por processo descontínuo para obtenção de clorofila**. Dissertação de doutorado, Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2001.
- DANESI, E. D. G.; RANGEL-YAGUI, C. O.; CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Na investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass & Bioenergy**, v. 23, p. 261 - 269, 2002.
- DEAN, A. P., ESTRADA, B., NICHOLSON, J. M., & SIGEE, D. C.. Molecular response of *Anabaena flos-aquae* to differing concentrations of phosphorus: A combined Fourier transform infrared and X-ray microanalytical study. **Phycological research**, 56(3), 193-201. 2008.
- DE PHILIPPIS, R.; VINCENZINI, M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. **FEMS Microbiol Reviews** v. 22 p.151–175, 1998.
- DI BERNARDO, L. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**, 1ª ed., ABES: Rio de Janeiro, 1993.
- DILLON, J.C.; PHUN, A.P.; DUBACQ, J.P. Nutritional Value of the Alga *Spirulina*. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 77, p. 32 - 46, 1995.
- DUAN, J.; GREGORY, J. Coagulation by hydrolysing metal salts. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 100, p. 475-502, 2003.
- EISENLAUER, J.; HORN, D. Fibre-optic sensor technique for flocculant dose control in flowing suspensions. **Colloids and surfaces**, v. 14, n. 1, p. 121-134, 1985.
- FALCONER, I. R. Effects on human health of some toxic cyanobacteria (blue-green algae) in reservoirs, lakes, and rivers. **Toxicity assessment**, v. 4, n. 2, p. 175-184, 1989.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5ª ed. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, p. 198, 2010.

- FAWELL, J. K.; HART, J. JAMES, H. A.; PARR, W. Blue-green algae and their toxins- analysis, toxicity, treatment and environmental control. **Water supply-oxford**, v. 11, p. 109-109, 1993.
- FERRARI, G. M.; TASSAN S. A method using chemical oxidation to remove lighth absorption by phytoplankton pigments. **Journal of Phycology**, n. 35, p. 1090-1089, 1999.
- FERRAZ, C. A. M. Produção de *Spirulina máxima*: Influência de ecofatores e uso de um sub produto da indústria alcooeira. **Revista de Microbiologia**, v. 17, n. 1, p.70 - 74, 1986.
- FERREIRA FILHO, S. S. Otimização da Aplicação do CAP no Tratamento de Água Visando a Redução de Compostos Orgânicos Causadores de Odor e Sabor em Águas de Abastecimento. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 1, n. 4, p. 131-43, 1996.
- FISPQ **Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos**. Synth®, Produtos para Laboratórios Ltda. Em: <http://www.labsynth.com.br/fispq.html>. Acessado em: 3 de agosto de 2014.
- FUNTEU, F.; GUET, C.; WU, B.; TREMOLIERES, A. Effects of environmental factors on the lipid metabolism in *Spirulina platensis*. **Plant physiology and biochemistry**, v. 35, n. 1, p. 63-71, 1997.
- GOMES-CORONADO, D. J.; IBÁÑEZ, E.; RUPEREZ, F. J.; BARBAS, C. Carotenoids and tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. **Journal of Chromatography**, v. 1054, p. 227 - 233, 2004.
- GROBBELAAR, J.U. **Algal nutrition: mineral nutrition**. In: RICHMOND A, editor. Handbook of Microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford: Blackwell Science, p 97-115, 2004.
- HATTORI, A.; MYERS, J. Reduction of nitrate and nitrite by subcellular preparations of *Anabaena cylindrica*. I. Reduction of nitrite to ammonia. **Journal of Plant Physiology**, v. 41, p. 1031, 1966.
- HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E.; SIÑORANS, J.; CIFUENTES, A. Pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis* microalgae determination of their antioxidant activity and preliminary analysis by micellar eletrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 1047, p. 195 - 203, 2004.
- HOLT, P. K.; BARTON, G. W.; MITCHELL, C. A. The future for electrocoagulation as a localised water treatment technology. **Chemosphere**, v. 59, n. 3, p. 355-367, 2005.
- JAGUARIBE, E. F., MEDEIROS, L. L., BARRETO, M. C. S. e ARAÚJO, L. P. The performance of activated carbons from sugarcane bagasse, babassu, and coconut shells in removing residual chlorine. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2005.
- JANKOWSKA, H.; SWIATKOWSKI, A.; CHOMA, J. Activated carbon. **WNT, Warsaw**, p 54-87, 1991.

- JENSEN, S.; KNUTSEN, G. Influence of light and temperatura on photoinhibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, p. 495-504, 1993.
- JOURDAN, J. P. **Cultivez votre spiruline**. Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline. France, 146 p, 2006.
- KABSCH-KORBUTOWICZ, M. Effect of Al coagulant type on natural organic matter removal efficiency in coagulation/ultrafiltration process. **Desalination**, n. 185, v. 1-3, p. 327-333. 2005.
- KAPLAN, A.; REINHOLD, L. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular**, v. 50, p. 539-570, 1999.
- KAWAMURA, S. Effectiveness of natural polyelectrolytes in water treatment. **Journal (American Water Works Association)**, p. 88-91, 1991.
- KOSARIC, N.; NGUYEN, H. T.; BERGOUGNOU, M. A. Growth of *Spirulina maxima* algae in effluents from secondary waste-water treatment plants. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 16, n. 7, p. 881-896, 1974.
- LA ROVERE, E. L; D'AVIGOGNON, A; PIERRE, C. V; KLIGERMAN, D .C; SILVA, H. V. O; BARATA, M. L. **Manual de Auditoria Ambiental para Estações de Tratamento de Esgotos Domésticos**. Rio de Janeiro. Qualitymark. 145p. 2002.
- LACAZ-RUIZ, R. Espirulina e Zootecnia. In: LACAZ-RUIZ, R. coord. **Espirulina** - Estudos e Trabalhos. São Paulo: Editora Roca. p. 1 – 34, 2003.
- LALEZARY, Shala; PIRBAZARI, Massoud; MCGUIRE, Michael J. Evaluating Activated Carbons for Removing Low Concentrations of Taste-and Odor-Producing Organice. **Journal (American Water Works Association)**, p. 76-82, 1986.
- LEDUY A.; THERIEN, N. An improved method for optical density measurement of the semicroscopic blue algae *Spirulina maxima*. **Biotechnology and Bioengineering**, v.19, p.1219 - 1224, 1977.
- LEE, Y. K. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. **Journal of Applied Phycology**, v. 13, p. 307 - 315, 2001.
- LI, Z. Y.; GUO, S. Y.; LI, L. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. **Bioresource Technology**, v. 89, p. 171 - 176, 2003.
- MADIGAN, M.; MARTINKO, J; DUNLAP P.; CLARK, D. BROCK. **Brock Biology of Microorganisms**. 12th. edición. Pearson Education, p. 511-512. 2009.
- MAHAJAN, G.; KAMAT, M. γ -Linolenic acid production from *Spirulina platensis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, p. 466-469, 1995.

- MALONE, C. F. S.; SANTOS, K. R. S.; SANT'ANNA, C. L. Algas e cianobactérias de ambientes extremos do pantanal brasileiro. **Oecologia Australis**, v. 16, n. 4, p. 745-755, 2013.
- MARCHETTO, M.; FERREIRA FILHO, S.S. Interferência do processo de coagulação na remoção de compostos orgânicos causadores de gosto e odor em águas de abastecimento mediante a aplicação de carvão ativado em pó. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 243-252, 2005.
- MCKEOWN, N. B.; BUDD, P. M.; GHANEM, B. S.; KINGSTON, H. J.; TATTERSHALL, C. E. Polymers of intrinsic microporosity (PIMs): bridging the void between microporous and polymeric materials. **Chemistry-A European Journal**, v. 11, n. 9, p. 2610-2620, 2005.
- MENDES, C. G. N. **Estudo da coagulação e floculação de águas sintéticas e naturais com turbidez e cor variáveis**. 1989. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de Sao Carlos, Universidade de Sao Paulo.
- MILLER, A. G.; COLMAN, G. Evidence for HCO_3^- transport by the blue-green alga (cyanobacterium) *Coccochloris peniocystris*. **Plant Physiology**, v.65, p.397- 402, 1980.
- MONTSORIU, J. D. T. **Ingeniería Sanitaria: tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales**. 2 ed. Barcelona: Editorial Labor, S. A., p. 1, 12, 13, 133. 1985.
- MORAVIA, W. G. **Estudos de caracterização, tratabilidade e condicionamento de lixiviados visando tratamento por lagoas**. 2007. Tese de Doutorado. Programa de Pós Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais–UFMG. Belo Horizonte.
- MORIST, A.; MONTESINOS, J.L.; CUSIDÓ, J.A.; GÒDIA, F. Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. **Process Biochemistry**, v.37, p.535-547, 2001.
- MOROCHO JÁCOME A. L. **Estudo do reaproveitamento de meio no cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis***. 2014. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmaceuticas. Universidade de São Paulo.
- MORSE, G. K.; BRETT, S. W.; GUY, J. A.; LESTER, J. N. Review: Phosphorus removal and recovery technologies. **Science of the total environment**, v. 212, n. 1, p. 70, 1998.
- MOTA, S. Introdução à engenharia ambiental. In: **Introdução à engenharia ambiental**. 2 Ed. Rio de Janeiro. Abes, 2003.
- MÜLLER, C. C.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T.; CYBIS, L. F. Adsorção em carvão ativado em pó para remoção de microcistina de água de abastecimento público. **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 1, p. 29-38, 2009.
- MURO-PASTOR, M. I.; FLORÊNCIO, F. J. Regulation of ammonium assimilation in cyanobacteria. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 41, p. 595 – 603, 2003.

- NAJM, I. N.; SNOEYINK, V. L.; SUIDAN, M. T.; LEE, C. H.; RICHARD, Y. Effect of particle size and background natural organics on the adsorption efficiency of PAC. **Journal (American Water Works Association)**, p. 65-72, 1990.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, **NCBI**. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 28 Jul. 2014.
- NUNES, V. A.; GOMES, G. A.; SILVA, R. C. S.; LACAZ-RUIZ, R. Tópicos de biologia molecular para o estudo de cianobactérias. In: LACAZ-RUIZ, R., coord. **Espirulina - Estudos e Trabalhos**. São Paulo: Editora Roca. p. 235-237, 2003.
- ODEGAARD, H. Chemical floc formation in wastewater treatment- an introduction. **Prog. Wat. Tech., Supl.** Pergamon Press, v. 1, p. 103-110, 2010.
- OLGUÍN, E.J.; GALICIA, S.; HERNÁNDEZ, E. ANGULO, O. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp. growth on pig waste. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 19 - 24, 2001.
- OLIVEIRA, A. S. **Tratamento de esgoto pelo sistema de lodos ativados no Município de Ribeirão Preto, SP: Avaliação da remoção de metais pesados**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2006.
- ÖZTÜRK, N.; BEKTAŞ, T. E. Nitrate removal from aqueous solution by adsorption onto various materials. **Journal of hazardous materials**, v. 112, n. 1, p. 155-162, 2004.
- PANIAGUA-MICHEL, J.; DUJARDIN, E.; SIRONVAL, C. CRONICA AZTECA: El tecuitlatl, concentrado de algas espirulinas fuente de proteínas comestibles del pueblo de los Aztecas. Traduzido por Angélica López de LEROUX, **Cahiers Agricultures**, v.2, p.283-287, 1993.
- PAOLETTI, C.; PUSHPARAJ, B.; TOMASELLI, L. Ricerche swulla nutrizione minerale di *S. platensis*. In: **Atti Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia**, v.17, Padua. Atti. Pádua: Italian Society of Microbiology, 1975, p. 833-839.
- PARADA, J. L.; CAIRE, G. Z.; MULE, M. C. Z.; CANO, M. M. S. Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, p. 225 – 228, 1998.
- PAVANELLI, G. **Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor ou turbidez elevada**. 2001. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo, São Carlos.
- PEDRAZA, G. X.; Aplicación de la biotecnología apropiada para la producción de proteína unicelular a partir de *A. maxima*. **Livestock Research for Rural Development**. Cali: Colombia, vol. 1 n 1, p 7. 2000.

- PELIZER, L. H.; DANESI, E. D. G.; RANGEL, C.O.; SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S.; MORAES, I.O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v.56, p.371 - 375, 2003.
- PELIZER, L. H.; SASSANO, C. E.; CARVALHO, J. C.M.; SATO, S.; GIOIELLI, L. A.; MORAIS, I.O. Padronização do método de secagem da biomassa de *Spirulina platensis*. **Revista de Farmácia e Bioquímica**, v.32, n.1, p.37-40, 1999.
- PIERCE, W. C.; HAENISCH, E. L. **Quantitative Analysis**, 3ed., John Willey & Sons Inc., New York. 1948.
- PIORRECK, M.; HINNERK, K.; POHL, B.; POHL, P. Biomass production, total protein chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue green algae under different nitrogen regimes. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 207 - 216, 1984.
- PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, p. 287-293, 2001.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 65, p. 635–648, 2004.
- PULZ, O.; SCHEIBENBOGEN, K. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. **Advances Biochemistry Engineering and Biotechnology**, v. 41, p.124-148, 1998.
- RANGEL, C. O. **Influência da luz e uréia no crescimento e conteúdo de clorofila da biomassa de *Spirulina platensis***. São Paulo, 2000. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- RANGEL-YAGUI, C. O.; DANESI, E. D. G.; CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 133 - 141, 2004.
- RICHMOND, A. *Spirulina*. In: BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZA, L. J., eds. **Microalgal biotechnology**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 85-119, 1988.
- RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. Tratamento de água. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTD p. 38-46, 1991.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.B.; HERDMAN, M.; STANIER, R.Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.
- RODRIGUES, M. S., FERREIRA, L. S., CONVERTI, A., SATO, S., DE CARVALHO, J. C. M. Influence of ammonium sulphate feeding time on fed-batch *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* cultivation and biomass composition with and without pH control. *Bioresource technology*, 102(11), 6587-6592, 2011.
- RODRIGUEZ-MAROTO, J. M.; JIMENEZ, C.; AGUILERA, J.; NIELL, F. X. Air bubbling results in carbon loss during microalgal cultivation in bicarbonate-enriched media:

- experimental data and process modeling. **Aquacultural Engineering**, v. 32, p. 493-508, 2005.
- RUSSEL, J. B. **Química Geral**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1981. 897p.
- SÁNCHEZ, M.; BERNAL-CASTILLO, J.; ROZO, C.; RODRIGUEZ, I. *Spirulina (Arthrospira)*: An edible microorganism: A review. **Universitas Scientiarum**, v. 8, n. 1, p. 7-24, 2003.
- SANCHEZ-LUNA, L. D.; BEZERRA, R. P.; MATSUDO, M. C.; SATO, S.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Influence of pH, temperature, urea molar flow rate on *Arthrospira platensis* fed-batch cultivation: a kinetic and thermodynamic approach. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 96, n. 4, 2007.
- SANTOS FILHO, D. F. **Tecnologia de tratamento de água**. São Paulo: Editora Nobel, p. 24, 1985.
- SCHLÖSSER, U. G. Sammlung von Algenkulturen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 95, p. 181-276, 1982.
- SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N. E. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake of dissolved inorganic carbon. **Plant Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 649-657, 1993.
- SINGH, S. P.; MONTGOMERY, B. L. Determining cell shape: adaptive regulation of cyanobacteria cellular differentiation and morphology. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 6, p. 278-285, 2011.
- SPERLING, V. M. **Introdução a qualidade da água e ao tratamento de esgotos**. 3 ed. Belo Horizonte. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 452 p. 2005.
- SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae, **Journal Bioscience and Bioengineering**, n. 101, p. 87-96, 2006.
- STACHIW, R. **Modelagem e simulação do processo de adsorção de compostos orgânicos em xisto retornado**. Qualificação de doutorado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba – PR, 2005.
- SWIATKOWSKI, A.; PAKULA, M.; BINIAK, S. Chemical and electrochemical studies of interactions between iron (III) ions and an activated carbon surface. **Langmuir**, v. 14, n. 11, p. 3082-3089, 1998.
- TACON, A.; JACKSON, A. **Utilization of conventional and unconventional source in practical fish feeds**. In: Nutrition and feeding in fish. London, Academic Press, p. 119-45, 1985.
- TANTICHAROEN, M., REUNGJITCHACHAWALI, M., BOONAG, B., VONKTAVEESUK, P., VONSHAK, A. & COHEN, Z. Optimization of γ -linolenic acid

- (GLA) production in *Spirulina platensis*. **Journal of applied phycology**, v. 6, n. 3, p. 295-300, 1994.
- TOMASELLI, L. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: VONSHAK, A., ed. ***Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology***. London: Taylor and Francis, p.79-99, 1997.
- USEPA, Enhanced Coagulation, and Enhanced Precipitative Softening Guidance Manual. "EPA." **Office of Water and Drinking Ground Water**, Washington ,p. 20-50, 1998.
- UTEX **The Culture Collection of Algae**. At the University of Texas at Austin. Disponível em: <<http://www.utex.org/>>. Acesso em 11 de abril de 2013.
- VAN DEN HOEK, C.; MANN, D.G.; JAHNS, H. M. *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge, UK: **Cambridge University Press**, p 505, 1995.
- VAZ DE LIMA, L. G.; KLEN, M. R. F.; VEIT, M. T.; SILVA, E. A. D., BARBIERO, T. A.; BERGAMASCO, R. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45-54, 2010.
- VIANNA, M. R. Hidráulica aplicada às estações de tratamento de água. In: **Hidráulica aplicada às estações de tratamento de água**. Instituto de Engenharia Aplicada, 2 ed. p. 344, 1992.
- VOGEL, A.I. *Análise química quantitativa*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Ltda., 1992. 712 p.
- VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2 ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais; 1996.
- VONSHAK, A. (Ed.). ***Spirulina Platensis Arthrospira: Physiology, Cell-Biology And Biotechnology***. CRC Press, p 113, 1997.
- VONSHAK, A.; BOUSSIBA, S.; ABELIOVICH, A.; RICHMOND, A. Production of *Spirulina* Biomass: maintenance of monoalgal culture outdoors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 25, n. 2, p. 341 - 349, 1983.
- VONSHAK, A.; TOMASELLI, L. *Arthrospira (Spirulina): systematics and ecophysiology*. In: **Whitton, B.A., Potts, M. (Eds.), Ecology of Cyanobacteria. Kluwer Academic Publishing**, The Netherlands, p. 518-522, 2000.
- WEISSMAN, J.C.; GOEBEL, R.P. Photobioreactor design: mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. **Biotechnology and Bioengineering**, vol. 31, p. 336-344, 1988.
- WHITTON, B. A. Diversity, ecology, and taxonomy of the cyanobacteria. **Photosynthetic prokaryotes**, p. 1-51, 1992.

- YANG, R. T. **Adsorbents: Fundamentals and applications**. 6th ed. Hoboken: Wiley-Interscience, p. 79, 2003.
- ZANELLA, O. ; TESSARO, I. C.; FÉRIS, L. A importância do potencial hidrogeniônico (Ph) na sorção de nitrato em solução aquosa utilizando carvão ativado modificado com CaCl_2 . **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 605-609, 2005.
- ZARROUK, C. **Contribution a l'étude d'une cyanophycee influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance e photosynthese de *Spirulina maxima***. Université de Paris, Paris, France, p. 4-5, 1966.
- ZHAN, X., GAO, B., YUE, Q., LIU, B., XU, X., LI, Q.. Removal natural organic matter by coagulation-adsorption and evaluating the serial effect through a chlorine decay model. **Journal of hazardous materials**, 183(1), 279-286, 2010.