

II-355 - AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICROALGAS COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEL UTILIZANDO EFLUENTE DE UASB

Thiago Santos de Almeida Lopes⁽¹⁾

Graduando em Engenharia Sanitária e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Weruska Brasileiro Ferreira⁽²⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Doutora em Engenharia Química pela UFCG. Professora Doutora do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UEPB.

Yohanna Jamilla Vilar de Brito⁽³⁾

Graduanda em Engenharia Sanitária e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Tássio Henrique Cavalcanti da Silva Cunha⁽⁴⁾

Engenheiro Sanitarista e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Mestrando em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRS).

Iana Chaíene de Araújo Vidal⁽⁵⁾

Graduanda em Engenharia Sanitária e Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

Endereço⁽¹⁾: Rua Vileneuve Honório Maia, 998A - Prata – Campina Grande - PB - CEP: 58400-600 - Brasil - Tel: (83) 9615-6083 - e-mail: thiagosantos_al@outlook.com

RESUMO

A demanda por energia está sempre aumentando, alimentada por uma população em expansão e um desejo de maior padrão de vida. Nesse sentido, os biocombustíveis surgem como uma alternativa sustentável de energia, visto que contribuem para a redução do CO₂ liberado pela queima de combustíveis à base de petróleo. Para a produção dos biocombustíveis utiliza-se óleo de plantas oleaginosas como a soja, o milho e a mamona, que necessitam de grandes áreas de terra e grandes quantidades de água para o seu cultivo, podendo impactar a produção de alimentos, causar erosão e empobrecimento do solo, e prejudicar os corpos hídricos e os ecossistemas aquáticos com a excessiva retirada de água. Analisando uma alternativa de maior viabilidade para a produção de biocombustíveis destacam-se as microalgas, que assimilam uma maior taxa de CO₂, produzem mais óleo em relação às oleaginosas e não requerem grandes áreas para o seu cultivo. As microalgas são microrganismos fotossintetizantes, dotados de clorofila *a*, com exigências nutricionais simples e que podem produzir lipídios, carboidratos e proteínas em curto espaço de tempo. O respectivo trabalho teve como objetivo elevar ao máximo o potencial de desenvolvimento da microalga *Chlorella sp* visando à produção de biocombustíveis em meios de cultura suplementados com efluente de tratamento anaeróbico de esgoto sanitário do reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) com vistas a reduzir o custo dos cultivos e promover um destino adequado a esse efluente, que não possui características adequadas para o lançamento em corpos hídricos. A microalga em estudo foi cultivada utilizando o meio de cultura sintético *Bold's Basal Medium* (BBM), adicionado a diferentes proporções do efluente de UASB (5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100%), em meio mixotrófico. Observou-se que os meios de cultivo suplementados com efluentes de UASB ofereceram características para o desenvolvimento da microalga. Dessa forma, pôde-se concluir que há viabilidade no cultivo de microalgas por meio da suplementação de resíduos líquidos oriundos do tratamento de esgoto doméstico, gerando assim uma nova possibilidade para a produção de biocombustíveis.

PALAVRAS-CHAVE: Efluentes de UASB, Reuso, Biocombustíveis, Microalga, UASB.

INTRODUÇÃO

O crescente aumento do preço do petróleo, somado aos problemas ambientais causados pela intensificação do efeito estufa, compõe um cenário no qual a utilização de fontes renováveis de energia se torna fundamental para garantir a sustentabilidade das futuras gerações e o equilíbrio do ambiente (GARCILASSO, 2014).

A demanda por novas matrizes energéticas no mundo tem impulsionado investimentos nas últimas décadas em diversos países na busca de fontes alternativas de energia. Neste cenário, a produção de biocombustíveis, neutros em emissões nocivas e sem riscos ambientais configuram uma alternativa de ampla abrangência no contingente de propostas em substituição ao uso dos combustíveis fósseis (CORREA e MINILLO, 2015).

Os biocombustíveis, por serem energias renováveis, são apresentados como alternativa aos combustíveis fósseis, contribuindo para a estabilização da concentração de CO₂ na atmosfera e permitindo a ciclagem da matéria na natureza. Derivados geralmente de produtos vegetais, podem ser produzidos utilizando matérias-primas como cana-de-açúcar, mamona, milho, soja, além de outros resíduos agrícolas e excrementos de animais. O óleo proveniente do processamento da matéria pode ser misturado, em qualquer concentração, ao diesel derivado do petróleo ou utilizado puro (SOUSA, 2014).

Devido ao mercado de alimentos, o biodiesel derivado de oleaginosas não supre a demanda existente por combustível para motores a diesel no país. A necessidade de grandes áreas para cultivo torna a produção em larga escala uma realidade distante e contribui para destruição da flora natural, esgotamento da capacidade dos solos e erradicação de espécies (SOUSA, 2014).

Dentre as propostas em foco, uma série de estudos tem demonstrado as microalgas como a mais promissora fonte de biomassa para a produção de biocombustíveis devido ao seu rápido crescimento e eficiência fotossintética, permitindo produtividades em óleos muito superiores às outras espécies terrestres utilizadas na produção de biocombustíveis (CORREA e MINILLO, 2015).

Segundo Chisti (2007), utilizar o cultivo de microalgas para a produção de biomassa possui diversas vantagens: a) Microalgas são consideradas como um sistema biológico muito eficiente para transformação de energia luminosa em energia química na forma de compostos orgânicos (> 50%); b) Apresentam elevada produtividade em mínima área superficial ou volumétrica; c) Muitas espécies de algas podem ser induzidas a produzir concentrações muito elevadas de compostos com valor comercial, tais como proteínas, carboidratos, lipídios e pigmentos; d) Microalgas apresentam elevadas taxas de crescimento; e) O cultivo de microalgas pode ser realizado a partir de águas salinas, salobras e águas residuárias de esgotos sanitários ou industriais; f) Sistemas de produção de biomassa microalgácea podem ser facilmente adaptados a diferentes níveis de competências operacionais ou tecnológicas e g) Microalgas podem ser cultivadas por um grande número de sistemas.

Com base nessa perspectiva, muitos países vêm desenvolvendo programas de pesquisa para propiciar produção de microalgas em larga escala buscando elaborar processos eficientes para extração de óleo aproveitando integralmente a biomassa gerada, e identificar as espécies de maior produtividade e fácil cultivo. Algumas espécies selvagens com elevado potencial já foram caracterizadas e seus genomas foram sequenciados para obtenção de estirpes geneticamente modificadas (MAYFIELD, 2008).

A *Chlorella* é um gênero de algas verdes unicelulares consideradas uma das formas de vida mais antiga da Terra. Existem, pelo menos, dez espécies do gênero no planeta. Sua estrutura simples e a grande concentração e variedade de nutrientes despertou o interesse de diversos cientistas. Hoje, muitos estudos consideram a *Chlorella* como sendo um dos mais importantes complementos nutricionais, apresentando grande diferencial pela sua capacidade de fixar numerosas substâncias tóxicas e pelo seu elevado crescimento (SOUSA, 2014).

A aplicação biotecnológica das microalgas é diversa, tais micro-organismos são fontes de quantidades relevantes de lipídeos, proteínas e carboidratos que podem ser convertidos em produtos de interesse comercial, entre eles os biocombustíveis. A utilização de microalgas como fonte de energia não é nova, mas tornou-se emergente nesta década devido às preocupações ambientais e ao aumento da demanda energética.

Apesar da potencialidade como recurso para biocombustíveis, muitos desafios têm impedido a viabilidade comercial do cultivo de microalgas. O processo ainda é limitado por alguns fatores relacionados aos custos de produção envolvidos na composição dos meios de cultura. Neste sentido, uma boa alternativa é aliar a produção com meios de cultura alternativos, entre os quais é possível destacar: águas residuárias, efluentes de biodigestores, lodo digerido, vinhaça de cana-de-açúcar, dentre outros.

O meio de crescimento das microalgas deve conter elementos como nitrogênio, fósforo, potássio, ferro, além de elementos em pequena concentração, tais como boro e molibdênio. Os cultivos autotróficos são os mais utilizados para produção em larga escala. Segundo Molina-Grima (2003) os meios de cultivo correspondem a 30% do custo de produção. Combinando o sequestro de CO₂ com a utilização de águas residuárias como meio de cultivo alternativo, o processo pode se tornar mais econômico.

Antes de ser lançado em corpos de água é necessário que o esgoto seja tratado de forma adequada. A busca por melhores condições ambientais tem exigido das unidades produtoras de águas residuárias a adoção de políticas ambientais que prevejam, entre outros fatores, a instalação de sistemas de tratamento, sejam eles físicos, químicos ou biológicos (SOUSA, 2014).

O Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente de Manta de Lodo (UASB) foi desenvolvido na Holanda por Lettinga, no final de década de 70, para o tratamento de efluentes industriais. Desde então, vem sendo utilizado no tratamento de efluentes domésticos e industriais. O Brasil é o país que mais investe em reatores anaeróbios. Essa tecnologia só começou a ser explorada na década de 80, em centros de pesquisa e universidades (ROSSI, 1999).

A utilização de reatores de manta de lodo em regiões de clima tropical e subtropical apresenta-se como uma solução econômica e segura para o tratamento de esgotos sanitários. O processo anaeróbio através de UASB tem mais vantagens em relação aos processos aeróbios convencionais, pois é um sistema compacto, com baixa demanda de área; apresenta baixo custo de implantação e operação; baixa produção de lodo; baixo consumo de energia; satisfatória remoção de DBO e DQO (65 - 75%); elevada concentração do lodo excedente e boa desidratabilidade do lodo (CHERNICHARO, 2007).

O processo anaeróbio fornece efluente com constituintes residuais, como gases dissolvidos, matéria orgânica, sólidos suspensos, nutrientes (fósforo e nitrogênio) e organismos patogênicos. Desta forma, efluentes advindos de reator anaeróbio de manta de lodo (reator UASB) necessitam de um pós-tratamento (SOUSA, 2000).

A utilização de microalgas no tratamento de águas residuárias apresenta grande vantagem devido ao elevado potencial para depuração das águas, podendo absorver diversos tipos de contaminantes e absorver nutrientes solúveis em cargas maiores que as necessárias para seu crescimento, garantindo, desse modo, a não acumulação de biomassa no processo e resolvendo o problema da eutrofização (SOUSA, 2014).

Desse modo, este trabalho teve como objetivo maximizar o potencial da microalga *Chlorella sp* visando a produção de biocombustível utilizando como meio de cultivo efluente de UASB com vistas a reduzir o custo dos cultivos, bem como, promover um destino adequado para esse efluente que se lançado em corpos hídricos poderá dar início ao processo de eutrofização devido as altas concentrações de nutrientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizadas cepas da espécie de microalga *Chlorella sp* existentes no Laboratório de Saneamento da UEPB, que foram fornecidas pelo Laboratório de Biotecnologia Alimentar da Universidade Federal de Santa Catarina. A Figura 1 mostra a fotomicrografia das cepas de *Chlorella sp* utilizadas em todo o estudo.

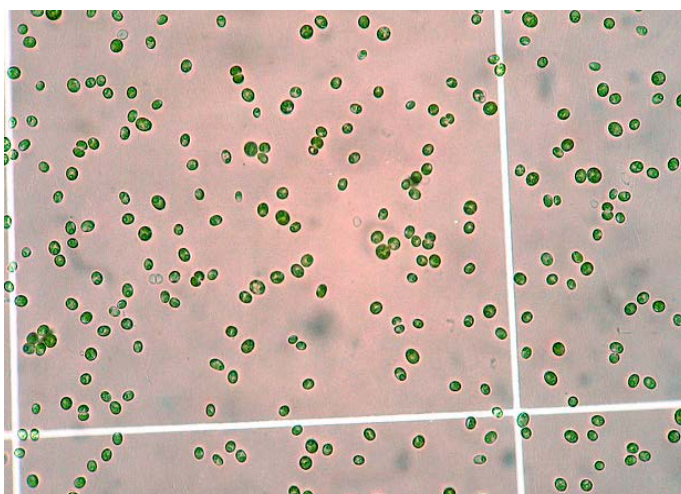


Figura 1: Fotomicrografia da microalga *Chlorella sp* em ampliação de 400x. Fonte: OLIVEIRA, 1995.

O meio sintético utilizado para o cultivo da *Chlorella sp* foi o *Bold's Basal Medium* (BBM) suplementado com extrato de levedura. A partir das culturas mantidas em meio sólido, em tubos de ensaios, foram desenvolvidas novas culturas em meio líquido através de repiques de cultivo durante a fase exponencial do crescimento da microalga.

A fonte nutricional adicionada ao meio BBM foi o efluente do reator tipo UASB, coletado na Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgotos Sanitários, apresentando DQO de 489 mg O₂/L, detenção hidráulica de 6 (seis) dias com adição de sulfato de sódio (Na₂SO₄). Suplementado nas seguintes proporções 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100%, bem como sem a adição de BBM, tudo isto sendo efetuado em uma inoculação na proporção de 1:10.

Antes da adição do efluente de UASB ao BBM foi realizado um pré-tratamento físico no mesmo, que consistiu na decantação em erlenmeyers com capacidade volumétrica de 1L, por 24 horas, para a retirada de materiais em suspensão. Após a sedimentação das partículas, realizou-se a filtração do sobrenadante para reter possíveis sólidos suspensos que viessem a existir ali.

As aclimações químicas foram realizadas com a inoculação do cultivo ao BBM e mantendo o pH do meio em 6,6. As condições físicas mantidas nos experimentos foram: temperatura em 26°C±2, agitação por injeção contínua de ar e iluminação de 4klux provenientes de lâmpadas fluorescentes de 40W com fotoperíodo de 12 horas, com o tempo de iluminação mantido por um controlador de tempo automático. O crescimento microalgal foi estimado pelo emprego de determinados parâmetros, como o crescimento celular, a densidade celular e o tempo de cultivo. A Figura 2 ilustra as condições de aclimação adotadas para o desenvolvimento das microalgas.



Figura 2: Cultivos em diferentes fases de crescimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo foi realizado com a suplementação do efluente de UASB no cultivo de *Chlorella sp* em meio BBM adicionado 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100% como fonte nutricional. Para melhor compreensão e análise dos resultados de cada concentração realizou-se um comparativo entre as mesmas.

A Figura 3 representa os dados experimentais da microalga em meio BBM com adição de 5% do efluente. A mesma apresentou uma rápida adaptação e uma média de densidade celular máxima de $2,18 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ no quinto dia de cultivo, partindo de uma população de $5,11 \times 10^5$ cel.mL⁻¹.

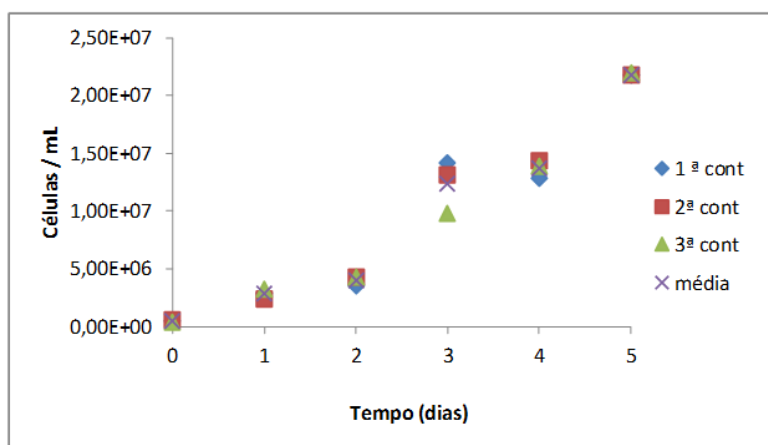


Figura 3: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 5% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 10% de efluente de UASB ao meio de nutrientes, é acurada na Figura 4. O cultivo partiu de uma população $1,05 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,14 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta um crescimento contínuo e com uma alta taxa de crescimento.

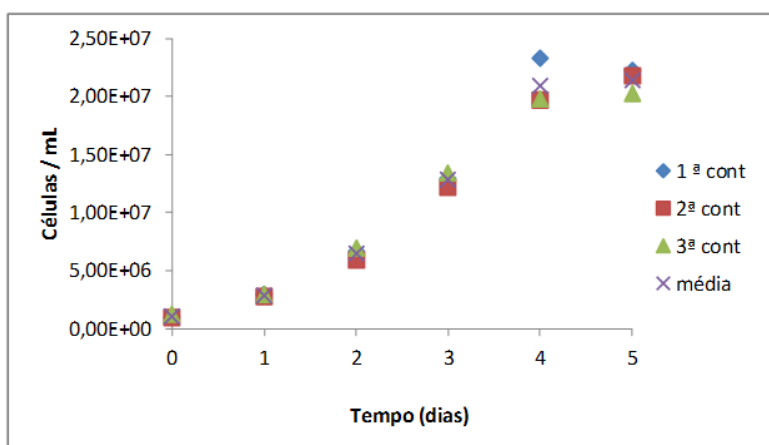


Figura 4: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 10% de efluente de UASB.

A Figura 5, representa os dados experimentais da *Chlorella sp* em BBM com adição de 20% de efluente de UASB. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $7,38 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e apresentou no último dia uma população de $1,11 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

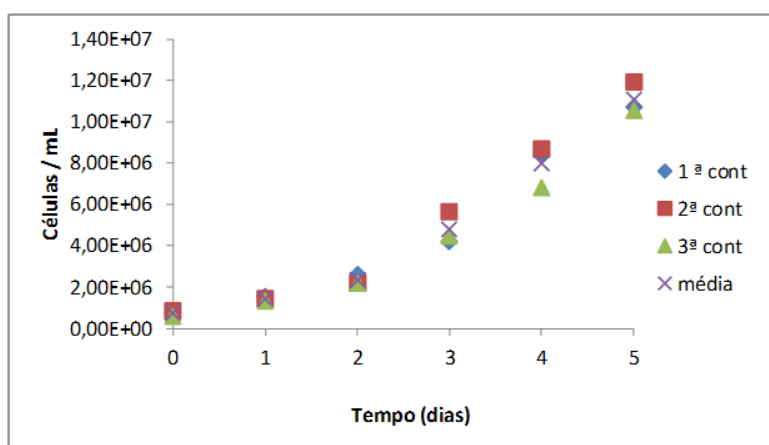


Figura 5: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 20% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da *Chlorella sp* em meio de cultivo BBM com adição de 30% de efluente de UASB estão ilustrados na Figura 6. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $3,73 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e ao término do cultivo apresentou uma população de $8,33 \times 10^6$ cel.mL⁻¹.

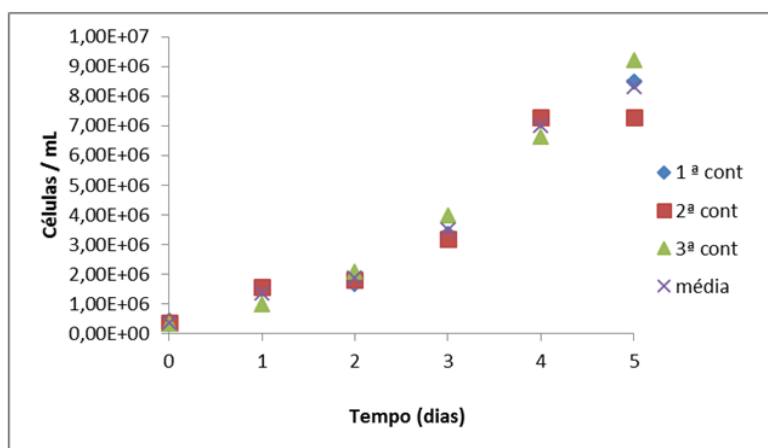


Figura 6: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 30% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da *Chlorella sp* em meio de cultivo BBM com adição de 40% de efluente de UASB é ilustrada na Figura 7. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $7,18 \times 10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$ e ao término do quinto dia apresentou uma população de $2,43 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$.

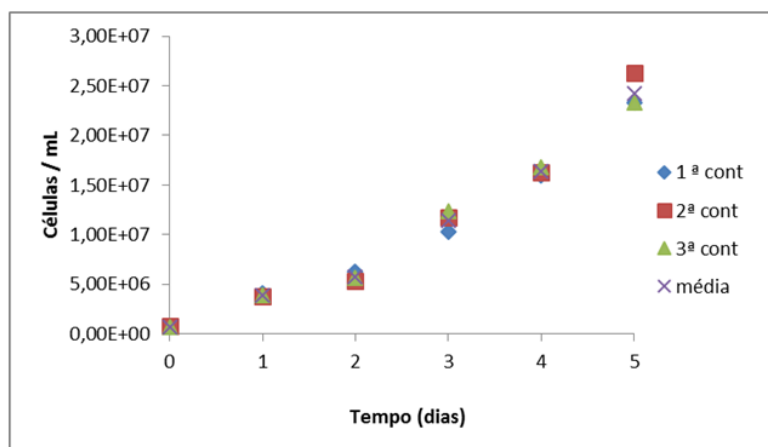


Figura 7: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 40% de efluente de UASB.

Os melhores resultados experimentais da *Chlorella sp* em meio de cultivo BBM, foram com adição de 60% de efluente de UASB, ilustrados na Figura 8. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $1,05 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$ e ao final apresentou uma população de $4,15 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$.

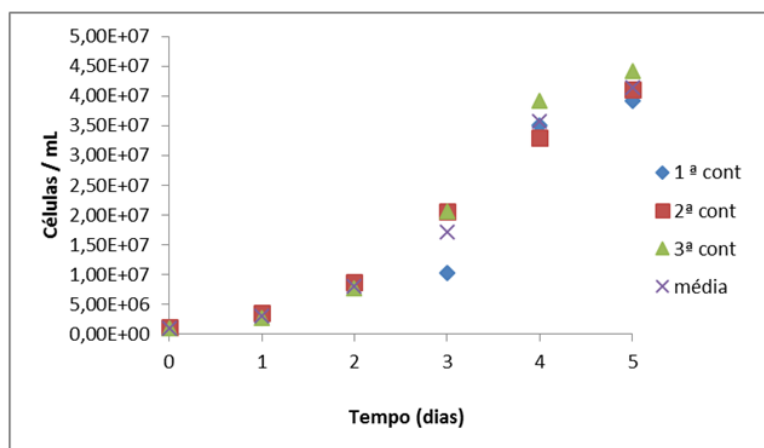


Figura 8: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 60% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da *Chlorella sp* em meio de cultivo BBM com adição de 80% de efluente de UASB é ilustrado na Figura 9. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $2,83 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e ao termino do cultivo apresentou uma população de $2,28 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O crescimento mostrou uma instabilidade na adaptação, mas após o segundo dia o crescimento foi contínuo.

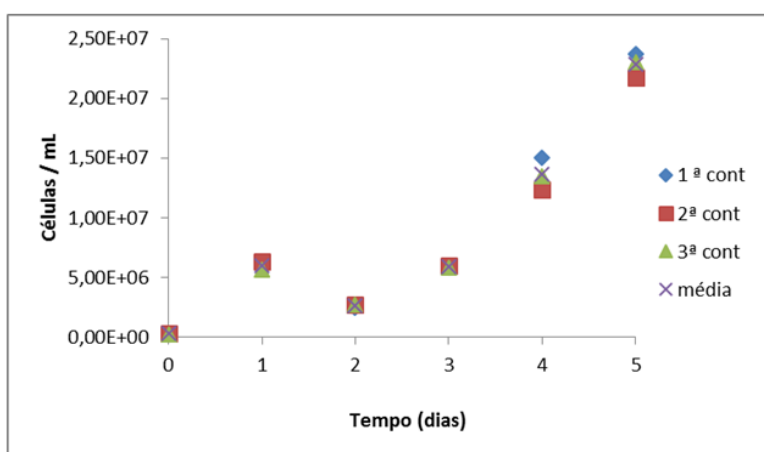


Figura 9: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 80% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 100% de efluente de UASB ao meio de nutrientes, é mostrada na Figura 10, abaixo. O cultivo partiu de uma população $4,18 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $3,40 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta um crescimento contínuo e com alta taxa de crescimento.

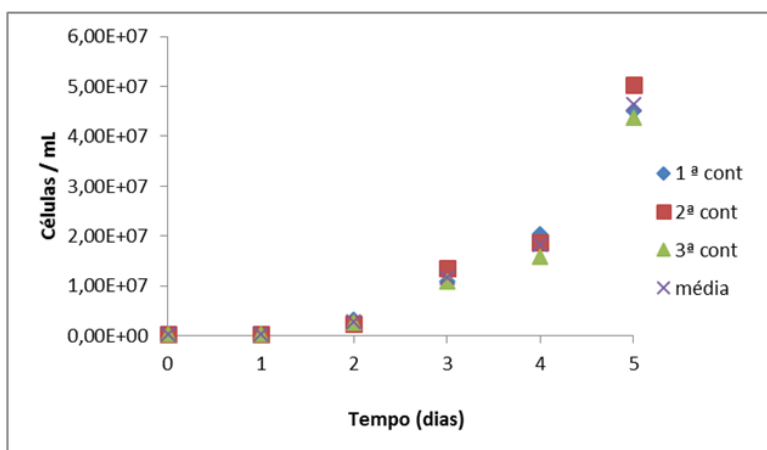


Figura 10: Dados experimentais do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM com adição de 100% de efluente de UASB.

Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada apenas com o efluente do reator UASB, é ilustrado na Figura 11, abaixo. O cultivo partiu de uma população $1,94 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,28 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O crescimento mostrou uma instabilidade na adaptação e após o quarto dia os nutrientes foram totalmente consumidos.

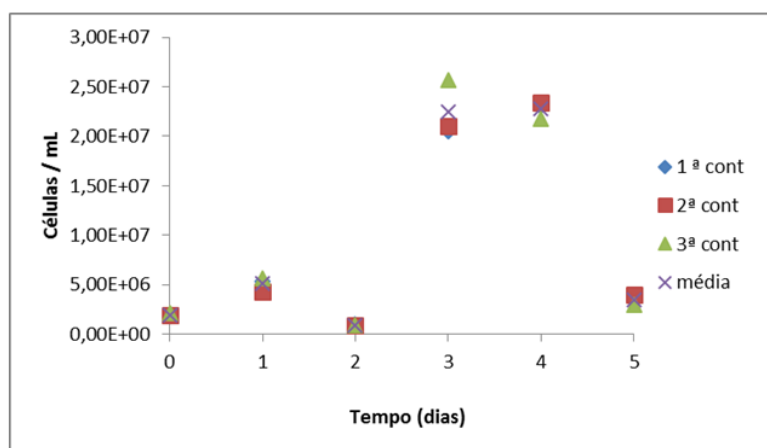


Figura 11: Dados experimentais da *Chlorella sp* cultivada em de 100% de efluente de UASB.

Santos et al. (2010), estudaram o crescimento da *Chlorella vulgaris* em meio de cultura Conway modificado com fotoperíodo de 12 horas em fotobioreatores de vidro de 250mL com intensidade luminosa de 4000lux, obtiveram a densidade máxima celular no oitavo dia cultivo de $2,5 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Corroborando a tal estudo, com a suplementação do efluente de UASB nos cultivos, Figura 12, foi obtido ótimo crescimento celular na ordem de 10^7 cel.mL⁻¹.

Observou-se que a utilização de 60% de efluente de UASB apresentou maior eficiência para produção de biomassa. Mas não se devem desprezar as demais concentrações, visto que para cunho ambiental o efluente de UASB pode ser utilizado em sua totalidade sem suplementação de meio sintético.

Vieira et al. (2014) estudaram o crescimento da *Chlorella sp* em meio suplementado com vinhaça e conseguiram os melhores resultados de crescimento celular apenas com suplementação de 10% de vinhaça, obtendo uma densidade celular de $2,57 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

Ferreira (2012) estudando o desenvolvimento da *Chlorella sp* em rejeito da dessalinização obteve uma máxima densidade celular de $4,7 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ com suplementação de 25% de rejeito.

Desta forma, verifica-se que o efluente de UASB utilizado nesse estudo promoveu o crescimento celular sem uso do meio sintético, obtendo-se os melhores resultados quando comparado com os demais estudos envolvendo o cultivo da *Chlorella sp* e a adição de resíduos líquidos.

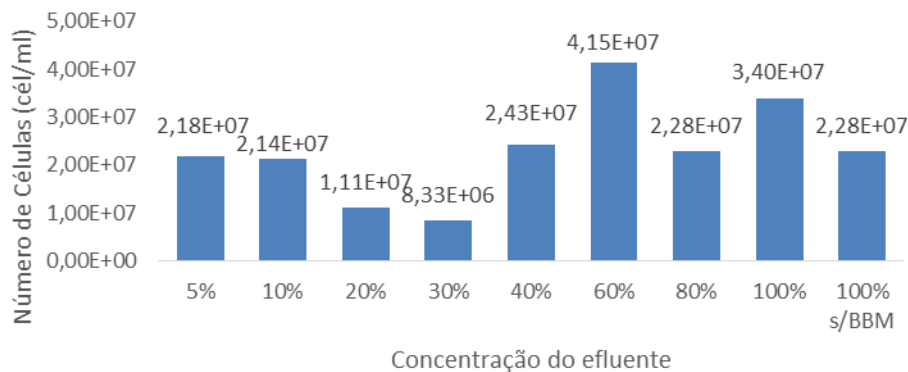


Figura 12: Comparativo entre os cultivos suplementados com efluente de UASB.

Verifica-se assim, que com a suplementação do efluente de UASB foi alcançado um rendimento celular superior quando comparado com os estudos de Santos et al (2010).

Pittman et al. (2011), realizaram estudos em escala laboratorial com cultivos de microalgas em batelada e relataram acúmulo considerável de lipídeos por esses micro-organismos quando cultivados em esgoto sanitário, variando de baixo (<10% peso seco) a moderado (17-31% peso seco) conteúdo lipídico e, em alguns desses casos, traduzidos como altas produtividades quando consideradas as elevadas produções de biomassa.

A equação (1) representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de vinhaça.

$$Z = 10,27 + 18,63x - 0,58y + 0,55xy \quad \text{equação (1)}$$

O gráfico de superfície de resposta, ilustrado na Figura 13, foi gerado a partir da equação (1). Os termos da equação representam a concentração da biomassa no eixo z, o tempo em x, e a concentração de efluente do filtro anaeróbico no eixo y.

Na superfície de resposta, ilustrada na Figura 13, observa-se que há uma fase de adaptação e ao final do quinto dia cultivo da *Chlorella sp* em BBM adicionando 100% do efluente apresentou uma maior densidade celular, $5,03 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$, mostrando que não houve nenhuma contaminação ou toxicidade que impedisse o crescimento da microalga.

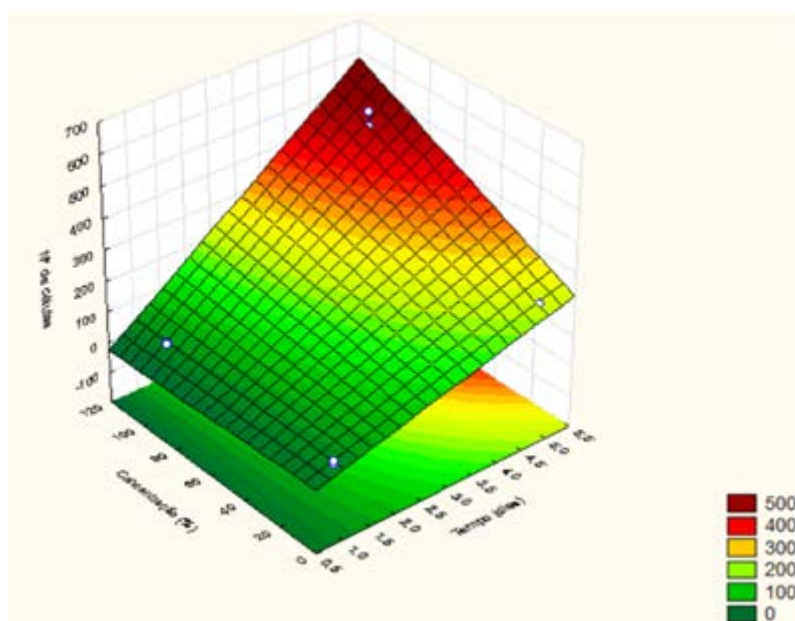


Figura 13: Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com efluente de UASB.

CONCLUSÕES

Perante a avaliação do desenvolvimento da microalga, *Chlorella sp*, por meio do uso do efluente do tratamento do esgoto doméstico como suplementação nutricional, visando a produção de biocombustíveis, pode-se concluir:

O duplo uso do cultivo de microalgas para o tratamento de efluentes acoplado à geração de biocombustível é uma opção atrativa em termos de redução dos custos energéticos, emissão de gases de efeito estufa, nutrientes e de água doce.

A produtividade elevada da biomassa de microalgas a partir de águas residuárias sugere que este método de cultivo é viável para geração de biocombustível, avaliado como uma das muitas abordagens utilizadas para produção de energia sustentável e renovável.

O cultivo suplementado com efluente de UASB apresentou ótimo desenvolvimento celular alcançando uma máxima de $4,15 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ em decorrência da adição de 60% do efluente mostrando que este pode ser usado pra produção de biocombustível, bem como a possível utilização das microalgas pra remoção dos nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHERNICHARO, C. A. L. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG. 2007.
2. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. Trends in Biotechnol, v.26, n.3, p.126-321, 2007.
3. CORREA, N. F.; MINILHO, A. Cultivo de microalgas em diferentes fontes de carbono e sua viabilidade para produção de biodiesel. Anais do encontro de iniciação científica - ENIC, n. 6, 2015.
4. FERREIRA, W. B. Aproveitamento do concentrado da dessalinização via osmose inversa para desenvolvimento de *Chlorella sp* e *Chorella vulgaris* visando a produção de biodiesel. Campina Grande, 2012. 148 f. Tese de doutorado-Universidade Federal de Campina Grande, 2012.
5. GARCILASSO, V. P. Análise entre processos e matérias-primas para a produção de biodiesel. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2014.

6. MAYFIELD, S. Algal Model, National Renewable Energy Laboratory – Air Force Office of Scientific Research Workshop on Algal Oil for Jet Fuel Production. 2008.
7. MOLINA-GRIMA, E. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. *Biotechnol.* v. 20, p. 491-515, 2003.
8. PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource technology*, v. 102, n. 1, p. 17-25, 2011.
9. ROSSI, L. F.; MATSUMOTO, T. Avaliação da eficiência de um reator UASB em escala piloto com separador de fases em forma de "y" tratando efluente de curtume. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.
10. SANTOS, L.B.G.; CALAZANS, N.K.F.; MARINHO, Y.F.; SANTOS, A.P.F.; NASCIMENTO, R.D.M.; VASCONCELOS, R.F.L.; MACÊDO, D.M.; GALVEZ, A.O. Influência do fotoperíodo no crescimento da *Chlorella vulgaris* (*Chlorophyceae*) visando produção de biodiesel. p.3, 2010.
11. SOUSA, J.T.; VAN HAANDEL, A.C.; COSENTINO, P.R.S.; GUIMARÃES, A.V.A, Pós-tratamento de efluente de reator UASB utilizando sistemas "wetlands" construídos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. vol.4 n°.1 Campina Grande Janeiro/Abril 2000.
12. SOUSA, L. C. O. Estudo do cultivo da microalga *Chlorella sp* em efluentes de UASB visando intensificar o potencial de geração de biocombustíveis. Campina Grande, 2014. Monografia-Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental-Universidade Estadual da Paraíba, 2014.
13. VIEIRA, T. Q.; FERREIRA, W. B.; ARAÚJO, H. W. C.; CUNHA, T. H. C. S.; VIDAL, I. C. A.; MELO, D. J. N. Estudo da viabilidade do uso de resíduos líquidos no cultivo da microalga *Chlorella sp* visando a produção de biocombustíveis. *Revista Monografias Ambientais – REMOA*, v.13, n.4, p.3477-3490, 2014.