UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

CULTIVO DE *Chlorella fusca* LEB 111 EM MEIO COM UREIA E CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO: AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DA BIOMASSA

CLAUDIA BANDEIRA DAS NEVES

PROF. DRA. MICHELE GREQUE DE MORAIS COSTA
Orientador

DRA. THAISA DUARTE SANTOS
Coorientadora

RIO GRANDE, RS
2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

CULTIVO DE *Chlorella fusca* LEB 111 EM MEIO COM UREIA E CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO: AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA DA BIOMASSA

CLAUDIA BANDEIRA DAS NEVES

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.

PROF. DRA. MICHELE GREQUE DE MORAIS COSTA
Orientador

DRA. THAISA DUARTE SANTOS
Coorientadora

RIO GRANDE, RS
2026

Ficha Catalográfica

N518c Neves, Claudia Bandeira das.
Cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 em meio com ureia e concentrado de dessalinização: avaliação do crescimento e da composição bioquímica da biomassa / Claudia Bandeira das Neves. – 2026.
71 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2026.
Orientadora: Dra. Michele Greque de Morais Costa.
Coorientadora: Dra. Thaisa Duarte Santos.

1. Biomassa microalgal 2. Composição bioquímica 3. Salinidade 4. Fonte alternativa de nitrogênio 5. Reutilização de água I. Costa, Michele Greque de Morais II. Santos, Thaisa Duarte III. Título.

CDU 338,45

Catalogação na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Claudia Bandeira das Neves, com orientação da Profa. Dra. Michele Greque de Morais Costa e coorientação da Dra. Thaisa Duarte Santos, aprovada em 4 de maio de 2026, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:

gov.br
Documento assinado digitalmente
MICHELE GREQUE DE MORAIS COSTA
Data: 05/05/2026 16:27:02-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Michele Greque de Morais Costa – FURG

gov.br
Documento assinado digitalmente
PRISCILLA QUENIA MUNIZ BEZERRA
Data: 05/05/2026 11:32:58-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Priscilla Quenia Muniz Bezerra – UNIVASF

gov.br
Documento assinado digitalmente
GABRIEL MARTINS DA ROSA
Data: 05/05/2026 14:00:29-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Gabriel Martins da Rosa – FURG

gov.br
Documento assinado digitalmente
JESSICA HARTWIG DUARTE
Data: 05/05/2026 12:34:00-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dra. Jessica Hartwig Duarte – FURG

RESUMO

O cultivo de microalgas em águas residuárias tem sido amplamente investigado devido à capacidade desses microrganismos de utilizar fontes alternativas de nutrientes e águas salinas ou residuais, reduzindo a demanda por água doce e insumos agrícolas. Além disso, esse cultivo possibilita a produção de biomassa rica em compostos de interesse, como proteínas, lipídios e carboidratos. Entretanto, os custos associados ao uso de água doce e nutrientes convencionais ainda limitam sua aplicação em larga escala. Nesse contexto, este trabalho avaliou o cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 utilizando ureia como fonte alternativa de nitrogênio e concentrado de dessalinização (CD) como substituto parcial ou total da água doce no meio de cultivo, visando à produção de biomassa e à caracterização de sua composição bioquímica. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas: na primeira, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações de ureia (25%, 50%, 75% e 100% em relação ao nitrogênio fornecido pelo $NaNO_3$ do meio BG-11); na segunda, a condição de melhor desempenho foi utilizada para avaliar diferentes proporções de CD (25%, 50%, 75% e 100%). Os cultivos foram conduzidos por 20 dias na etapa com ureia e 15 dias na etapa com CD, sendo avaliados crescimento, eficiência fotoquímica máxima (Fv/Fm) e composição bioquímica da biomassa. Na etapa com ureia, o tratamento com 50% apresentou o melhor desempenho, atingindo concentração máxima de biomassa de 1,7 g L^{-1} e produtividade máxima de 90,5 mg L^{-1} d^{-1}. Os teores de lipídios variaram entre 27,54% e 31,59%, sem diferenças significativas entre os tratamentos, enquanto os carboidratos variaram entre 20,27% e 36,02%, com maior acúmulo no tratamento com 50% de ureia. Os teores de proteínas variaram de 26,34% a 46,24%, sendo superiores nos tratamentos com 50%, 75% e 100% de ureia em relação ao controle. Na etapa com CD, as maiores concentrações de biomassa foram observadas nos tratamentos com 25% e 50%, atingindo até 1,2 g L^{-1}, enquanto proporções superiores reduziram o crescimento celular. Os lipídios variaram entre 12,52% e 15,58%, sem diferenças significativas, enquanto os carboidratos variaram entre 20,81% e 31,22%, com maior acúmulo em 50% de CD. A maior concentração de proteínas foi observada em 100% de CD (50,15%). De modo geral, a substituição parcial da água doce por CD, especialmente nas proporções de 25% e 50%, permitiu manter o crescimento e a qualidade bioquímica da biomassa em níveis comparáveis ao meio convencional, evidenciando o potencial desse resíduo como alternativa sustentável para o cultivo de microalgas.

Palavras-chave: Biomassa microalgal. Composição bioquímica. Salinidade. Fonte alternativa de nitrogênio. Reutilização de água.

ABSTRACT

CULTIVATION OF *CHLORELLA FUSCA* LEB 111 IN A UREA-BASED MEDIUM AND DESALINATION CONCENTRATE: EVALUATION OF BIOMASS GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION

Microalgae cultivation in wastewater has been widely investigated due to the ability of these microorganisms to utilize alternative nutrient sources as well as saline or residual waters, thereby reducing the demand for freshwater and agricultural inputs. In addition, this approach enables the production of biomass rich in compounds of interest, such as proteins, lipids, and carbohydrates. However, the costs associated with freshwater use and conventional nutrients still limit large-scale application. In this context, the present study evaluated the cultivation of *Chlorella fusca* LEB 111 using urea as an alternative nitrogen source and desalination concentrate (DC) as a partial or total substitute for freshwater in the culture medium, aiming at biomass production and biochemical composition characterization. The experiments were conducted in two stages: in the first stage, the effect of different urea concentrations (25%, 50%, 75%, and 100% relative to the nitrogen supplied by $NaNO_3$ in the BG-11 medium) was evaluated; in the second stage, the condition with the best performance was selected to assess different proportions of DC (25%, 50%, 75%, and 100%). Cultivations were carried out for 20 days during the urea stage and 15 days during the DC stage, and growth, maximum photochemical efficiency (Fv/Fm), and biomass biochemical composition were evaluated. During the urea stage, the 50% treatment showed the best performance, reaching a maximum biomass concentration of 1.7 g L^{-1} and a maximum productivity of 90.5 mg L^{-1} d^{-1}. Lipid contents ranged from 27.54% to 31.59%, with no significant differences among treatments, whereas carbohydrate contents ranged from 20.27% to 36.02%, with the highest accumulation observed in the 50% urea treatment. Protein contents ranged from 26.34% to 46.24%, with significantly higher values in the 50%, 75%, and 100% urea treatments compared to the control. During the DC stage, the highest biomass concentrations were observed in the 25% and 50% treatments, reaching up to 1.2 g L^{-1}, whereas higher proportions reduced cell growth. Lipid contents ranged from 12.52% to 15.58%, with no significant differences, while carbohydrate contents ranged from 20.81% to 31.22%, with the highest accumulation observed at 50% DC. The highest protein concentration was observed in the 100% DC treatment (50.15%). Overall, the partial replacement of freshwater with DC, particularly at proportions of 25% and 50%, maintained biomass growth and biochemical quality at levels comparable to those obtained in the conventional medium, highlighting the potential of this residue as a sustainable alternative for microalgae cultivation.

Keywords: Microalgal biomass. Biochemical composition. Salinity. Alternative nitrogen source. Water reuse.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microalga *Chlorella fusca* LEB 111. 16
Figura 2. Fluxograma experimental do cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 submetida a diferentes concentrações de ureia (Etapa 1) e proporções de concentrado de dessalinização (Etapa 2). 31
Figura 3. (A) Concentração de biomassa (g L^{-1}) de *Chlorella fusca* LEB 111 ao longo do cultivo sob diferentes concentrações de ureia e (B) variação do pH durante o cultivo. Ensaios com (●) Controle, (■) 25% de ureia, (▲) 50% de ureia, (◆) 75% de ureia e (⬟) 100% de ureia. 37
Figura 4. (A) Concentração de biomassa (g L^{-1}) de *Chlorella fusca* LEB 111 ao longo do cultivo sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização + 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) e (B) variação do pH durante o cultivo. Ensaios com (●) Controle 1 (BG-11), (▼) Controle 2 (CD + microalga), (■) 25% de CD, (▲) 50% de CD, (◆) 75% CD e (⬟) 100% CD. 47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição iônica do concentrado de dessalinização. 28
Tabela 2. Resultados do início (0 d) e fim (20 d) de eficiência fotossintética (Fv/Fm) de *C. fusca* LEB 111..... 39
Tabela 3. Concentração máxima de biomassa (Xmáx), Produtividade máxima de biomassa (Pmáx), velocidade específica máxima de crescimento (μmáx) e tempo de geração (tg) nos tratamentos com ureia durante os 20 dias de cultivo. 40
Tabela 4. Composição bioquímica da biomassa microalgal cultivada sob diferentes concentrações de ureia no meio de cultivo. 43
Tabela 5. . Concentração máxima de biomassa (Xmáx), Produtividade máxima de biomassa (Pmáx), velocidade específica máxima de crescimento (μmáx) e tempo de geração (tg) nos tratamentos com ureia durante os 15 dias de cultivo. 50
Tabela 6. Resultados do início (0 d) e fim (15 d) de eficiência fotossintética (Fv/Fm) de *C. fusca* Leb 111 cultivada sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização no meio de cultivo. Controle 1: meio BG-11 padrão; Controle 2: meio contendo apenas concentrado de dessalinização, sem adição de nutrientes. 52
Tabela 7. Composição bioquímica da biomassa microalgal cultivada sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização no meio de cultivo + 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}). Controle 1: meio BG-11 padrão; Controle 2: meio contendo apenas concentrado de dessalinização, sem adição de nutrientes. 53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 9

2 OBJETIVO 13
2.1 OBJETIVO GERAL 13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 13

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 14
3.1 MICROALGAS 14
3.1.1 *Chlorella spp.* 15
3.2 CULTIVO DE MICROALGAS E FATORES NUTRICIONAIS DE CRESCIMENTO 17
3.2.1 Influência do N no crescimento e na composição bioquímica das microalgas 18
3.2.2 Ureia como fonte alternativa de N no cultivo de microalgas 20
3.2.3 Uso de fontes hídricas alternativas no cultivo de microalgas 23
3.2.4 Concentrado de dessalinização 24
3.3 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA 25

4 MATERIAL E MÉTODOS 27
4.1 MICROALGA E PREPARO DO INÓCULO 27
4.2 CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO 27
4.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO 29
4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DOS CULTIVOS 32
4.5 RESPOSTAS AVALIADAS 32
4.6 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL 33
4.6.1 Caracterização da biomassa 33
4.7 ANÁLISE DE DADOS 34

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 35
5.1 EFEITO DA UREIA NO CRESCIMENTO CELULAR, NA EFICIENCIA FOTOSSINTETICA E pH 35
5.2 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA 42
5.3 EFEITO DO CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇAO E UREIA NAS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E pH 45
5.4 EFEITO DO CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO + 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) NA COMPOSIÇÃO D BIOMASSA 52

6 CONCLUSÃO 56

7 REFERÊNCIAS 57

1 INTRODUÇÃO

Apesar do elevado potencial das microalgas para a produção de biomassa e compostos de interesse, como lipídios, proteínas e carboidratos, os custos associados ao cultivo ainda limitam sua aplicação em larga escala, especialmente devido à elevada demanda por água doce, nutrientes convencionais e etapas operacionais intensivas. Nesse contexto, estratégias que utilizam águas residuárias e fontes alternativas de nutrientes têm sido amplamente investigadas, visando reduzir custos de produção, recuperar nutrientes e aumentar a sustentabilidade do processo sem comprometer a produtividade da biomassa e a obtenção de compostos de interesse industrial, incluindo moléculas derivadas de maior valor agregado, como ácidos graxos poli-insaturados, peptídeos bioativos e polissacarídeos extracelulares. Além disso, a capacidade das microalgas de crescer em diferentes condições de cultivo, incluindo matrizes residuárias e ambientes não agrícolas, favorece sua aplicação em sistemas integrados voltados à produção de biomassa e ao reaproveitamento de recursos (Novoveská *et al.*, 2023; Velásquez-Orta *et al.*, 2024).

Porém, uma das principais limitações para a produção de microalgas em larga escala é o elevado custo associado ao cultivo, especialmente relacionado ao uso de água doce, nutrientes sintéticos e à demanda energética do processo, podendo variar de aproximadamente US$ 2,83 a US$ 315 kg^{-1} de biomassa seca, dependendo do sistema de cultivo empregado (Al Bazedi *et al.*, 2023a; Guieysse; Plouviez, 2024). Nesse contexto, a busca por fontes alternativas de nutrientes e água tem se tornado fundamental para reduzir os custos operacionais e ampliar a viabilidade econômica do cultivo de microalgas em larga escala (Chakraborty; Gayen; Bhowmick, 2023; Ganesh Saratale *et al*., 2022). Dentre as estratégias empregadas, destaca-se a investigação do uso de fontes alternativas de nitrogênio, como a ureia, no cultivo de microalgas, visando reduzir os custos associados ao meio de cultivo e aumentar a sustentabilidade do processo, sem comprometer a produtividade da biomassa (Ganesh Saratale *et al.*, 2022; Hsieh; Wu, 2009)

Estudos recentes têm demonstrado a viabilidade da utilização da ureia no cultivo de diferentes microalgas, promovendo crescimento celular e acúmulo de biomoléculas de interesse. Molina-Miras *et al*. (2023) por exemplo, observaram crescimento semelhante ao obtido com nitrato no cultivo de *Amphidinium carterae* utilizando ureia como fonte de nitrogênio em fotobiorreatores. Além disso, estudos com espécies do gênero *Chlorella* também evidenciaram que alterações na fonte e na disponibilidade de nitrogênio influenciam

diretamente a produtividade de biomassa e a composição bioquímica celular (Tagliaferro *et al.*, 2024).

Adicionalmente, o uso de águas residuais tem sido amplamente investigado como alternativa para reduzir os custos operacionais e aumentar a sustentabilidade do cultivo de microalgas, uma vez que esses efluentes podem atuar simultaneamente como fonte de água e nutrientes para o crescimento microalgal (Álvarez-González *et al.*, 2023; Merida; Padrón, 2023). O concentrado de dessalinização (CD), subproduto do processo de osmose reversa, destaca-se como uma fonte potencial de água e nutrientes, contendo elevadas concentrações de sais minerais e nutrientes inorgânicos passíveis de assimilação pelas microalgas, como sódio (Na^+), magnésio (Mg^{2+}), cálcio (Ca^{2+}), potássio (K^+), cloretos (Cl^-), sulfatos (SO_4^{2-}), bicarbonatos (HCO_3^-), além de nutrientes essenciais ao crescimento microalgal, como nitrato (NO_3^-) e fosfato (PO_4^{3-}) (Al Bazedi *et al.*, 2023b; Matos, Ângelo Paggi *et al.*, 2015). Esses constituintes podem atuar como fonte de nutrientes para o metabolismo e crescimento microalgal, evidenciando o potencial do CD como meio alternativo para cultivo de microalgas (Matos, A.P. *et al.*, [*S.d.*]) Além disso, o reaproveitamento desse efluente contribui para minimizar os impactos ambientais negativos associados ao seu descarte inadequado, como a salinização do solo e degradação ambiental (Mata *et al*., 2020).

A expansão das tecnologias de dessalinização tem resultado na geração crescente de concentrado de dessalinização, cujo volume pode representar parcela significativa da água processada, dependendo da tecnologia empregada e da eficiência do sistema. O descarte inadequado desse efluente, caracterizado por elevadas concentrações de sais e compostos residuais oriundos do processo, pode intensificar a salinização do solo e de corpos hídricos, alterar características físico-químicas ambientais e comprometer ecossistemas aquáticos e terrestres, reforçando a necessidade de estratégias de reaproveitamento e gerenciamento adequado desse resíduo (Sharkh *et al.*, 2022; Zolghadr-Asli *et al.*, 2023).

A utilização do CD está também relacionada à problemática da disponibilidade de água doce, uma vez que apenas uma pequena fração da água presente no planeta encontra-se disponível para uso humano, visto que a maior parte corresponde à água salgada ou está armazenada em geleiras, calotas polares e aquíferos subterrâneos de difícil acesso. Além disso, os processos de dessalinização geram volumes expressivos de concentrado, sendo que, dependendo da tecnologia empregada e da recuperação do sistema, apenas cerca de 35 a 45% da água alimentada é recuperada como água dessalinizada, enquanto o restante constitui o concentrado de dessalinização (CD), reforçando a necessidade de estratégias alternativas para

o uso sustentável dos recursos hídricos e o aproveitamento desse resíduo (Bănăduc *et al.*, 2022; Yaqub; Nguyen; Lee, 2022).

Além disso, o crescimento populacional, a intensificação das atividades agrícolas e industriais e os efeitos das mudanças climáticas têm ampliado a demanda hídrica global, aumentando a pressão sobre os recursos hídricos disponíveis e impactando diretamente sistemas produtivos dependentes de água, especialmente em regiões suscetíveis à escassez hídrica (Zolghadr-Asli *et al.*, 2023). Esse cenário tem impulsionado o desenvolvimento de tecnologias para a dessalinização e o reuso da água (Mata *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o cultivo de microalgas em efluentes salinos surge como uma alternativa promissora para integrar a produção de biomassa e o tratamento de resíduos, promovendo um sistema mais sustentável por meio da recuperação de nutrientes, remoção de contaminantes e geração de biomassa de valor agregado (De Souza Celente *et al.*, 2024; Shirazi *et al.*, 2018; Srimongkol *et al.*, 2022).

Dentre as microalgas de interesse, o gênero *Chlorella* destaca-se devido à sua elevada capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais, incluindo ambientes salinos, sendo relatada tolerância a elevadas concentrações de NaCl, cuja magnitude varia conforme a espécie, cepa e condições de cultivo, além de apresentar composição bioquímica de interesse biotecnológico, com destaque para lipídios e ácidos graxos de interesse para produção de biocombustíveis, bem como proteínas e pigmentos com potencial aplicação em outros bioprodutos (Al Bazedi *et al.*, 2023a). Estudos conduzidos por (Matos, Ângelo Paggi *et al.*, 2015) e discutidos posteriormente por (Al Bazedi *et al.*, 2023b) demonstraram que microalgas do gênero *Chlorella* podem ser cultivadas em meios alternativos contendo concentrado de dessalinização sem comprometimento significativo do crescimento celular em determinadas condições; entretanto, a composição bioquímica da biomassa pode variar de acordo com a composição do meio e a salinidade.

Diante disso, a integração de fontes alternativas de nitrogênio, como a ureia, com o reaproveitamento de efluentes tem sido investigada como estratégia para reduzir custos operacionais e aumentar a sustentabilidade do cultivo microalgal. Estudos demonstram que a suplementação de águas residuárias com ureia pode favorecer o crescimento e a produtividade da biomassa, ao mesmo tempo em que promove o aproveitamento de nutrientes presentes no meio (Ramanna *et al.*, 2014). Além disso, o uso de efluentes como meio de cultivo tem sido amplamente reportado como alternativa promissora para a recuperação de nutrientes e redução

do consumo de água e fertilizantes convencionais no cultivo de microalgas (Vaz, Sofia A. *et al.*, 2023; Velásquez-Orta *et al.*, 2024).

Apesar dos avanços no cultivo de microalgas utilizando fontes alternativas de nutrientes e água, a maioria dos estudos disponíveis na literatura avaliaram esses fatores de forma isolada, com foco na substituição de fontes de nitrogênio ou na utilização de efluentes como meio de cultivo. No entanto, ainda são limitadas as investigações que abordam a integração simultânea de fontes alternativas de nitrogênio, como a ureia, e de fontes hídricas não convencionais, como o concentrado de dessalinização, especialmente no cultivo de cepas específicas como *Chlorella fusca* LEB 111. Nesse contexto, o presente trabalho busca preencher essa lacuna ao avaliar de forma integrada o efeito dessas variáveis sobre o crescimento e a composição bioquímica da biomassa microalgal.

O diferencial desta pesquisa reside na integração do rejeito de dessalinização como meio parcial de cultivo e da ureia como fonte alternativa de nitrogênio, visando não apenas a produção de biomassa microalgal, mas também ao reaproveitamento de resíduos, à redução do consumo de água doce e dos custos de produção, promovendo um sistema mais sustentável, econômico e alinhados aos princípios da economia circular.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 utilizando ureia como fonte alternativa de nitrogênio e concentrado de dessalinização como componente do meio de cultivo, visando à produção de biomassa e à caracterização de sua composição bioquímica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de ureia, como fonte alternativa de nitrogênio, no crescimento e na composição bioquímica da biomassa microalgal;
- Investigar o efeito de diferentes proporções de concentrado de dessalinização, em associação à ureia, sobre o crescimento da microalga e a produção de biomassa;
- Avaliar o efeito de diferentes proporções de concentrado de dessalinização, associadas ao cultivo com ureia, sobre os teores de lipídios, proteínas, carboidratos e umidade da biomassa microalgal.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MICROALGAS

Microalgas são microrganismos fotossintéticos encontrados em ambientes aquáticos doces e salgados. Esses microrganismos apresentam a clorofila como um dos principais pigmentos, o que lhes permite produzir biomassa a partir da energia solar e do dióxido de carbono (CO_2) (Chojnacka; Kim, 2015). As microalgas apresentam ampla diversidade de espécies, capazes de se desenvolver em diferentes condições ambientais (Dhal; Sahu, 2012). Esses microrganismos podem ser divididos em classes que compreendem algas verdes (Chlorophyceae), diatomáceas (Bacillariophyceae), algas amareladas (Chrysophyceae), cianobactérias (Cyanophyceae), algas vermelhas (Rhodophyceae) e algas marrons (Phaeophyceae) (Bharathiraja *et al.*, 2015).

As microalgas podem apresentar organização celular procariótica ou eucariótica (Derner *et al.*, 2006). As células procarióticas não possuem organelas delimitadas por membranas, como o núcleo, mitocôndrias, plastídios e complexo de Golgi, sendo representadas pelas cianobactérias. As demais microalgas pertencem ao grupo de organismos eucarióticos e apresentam células com organelas bem definidas. Nas células procarióticas, as reações fotossintéticas ocorrem em estruturas membranosas semelhantes a tilacoides, dispersas no citoplasma. Por outro lado, nas células eucarióticas a fotossíntese ocorre nos cloroplastos, nos quais os tilacoides encontram-se organizados e imersos no estroma, local onde ocorrem as reações de fixação do carbono (Lee, 1989).

Dentre as principais características das microalgas destacam-se o rápido crescimento e a capacidade de sintetizar e acumular elevadas quantidades de lipídios, carboidratos, proteínas e pigmentos. O desempenho das microalgas e o acúmulo dessas biomoléculas são influenciados pela escolha da cepa e das condições de cultivo como pH, temperatura, luminosidade e disponibilidade de nutrientes. Para assegurar o crescimento de biomassa, é necessária a suplementação adequada dos nutrientes, como o nitrogênio (N), fósforo (P), carbono (C), minerais e vitaminas (Cruz *et al.*, 2019).

As microalgas apresentam potencial de aplicação em diferentes setores industriais, devido à diversidade de compostos de interesse presentes em sua biomassa. Na indústria alimentícia, as microalgas têm sido amplamente exploradas como ingrediente funcional, sendo aplicadas tanto como suplemento quanto no enriquecimento nutricional de alimentos, em decorrência do seu elevado teor de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais, podendo apresentar

aproximadamente 20 - 70% de proteínas, 5 - 50% de lipídios, além de vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis, como A, C, E e vitaminas do complexo B, e minerais essenciais, como ferro, cálcio, magnésio, potássio e zinco, dependendo da espécie e das condições de cultivo. Estudos recentes demonstram que microalgas vêm sendo utilizadas em diferentes matrizes alimentícias, como produtos de panificação, massas, bebidas e alimentos plant-based, contribuindo para o aumento do valor nutricional e funcional dos produtos (Lafarga *et al.*, 2020; Matos, Ângelo Paggi; Novelli; Tribuzi, 2022). Além disso, a biomassa microalgal constitui uma fonte importante de compostos bioativos, como ácidos graxos poli-insaturados, carotenoides e compostos fenólicos, os quais estão associados a propriedades antioxidantes e a potenciais efeitos benéficos à saúde (Barros de Medeiros *et al.*, 2022). As microalgas vêm sendo investigadas em sistemas de biorrefinaria por apresentarem capacidade de acumular lipídios e carboidratos, que podem ser posteriormente convertidos em biocombustíveis, ampliando seu potencial de aplicação em diferentes setores industriais (Khaligh; Asoodeh, 2022).

Contudo, a produção de biomassa microalgal em escala comercial, na maioria dos casos, demanda o uso de água doce e altas concentrações de nutrientes, nos quais podem representar até 35% dos custos operacionais (Costa, Jorge Alberto Vieira *et al.*, 2019). Frente a isso, diversos estudos tem direcionado soluções para a implementação de sistemas de cultivo que utilizem fontes hídricas alternativas, como águas subterrâneas salobras (Duarte *et al.*, 2020), águas marinhas (Otaki *et al.*, 2019) e águas de reuso, como efluentes domésticos e industriais após tratamento adequado (Mata *et al*., 2020). O uso dessas fontes hídricas alternativas contribui para a redução de custos e para a sustentabilidade dos sistemas de produção de microalgas (Henrikson, 1994). Dentre as microalgas mais utilizadas, destacam-se os gêneros *Spirulina* e *Chlorella*, amplamente investigados devido ao potencial para produção de biomassa e compostos de interesse biotecnológico, incluindo proteínas, lipídios e pigmentos (Liu, Tan *et al.*, 2022; Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023).

3.1.1 *Chlorella spp.*

A microalga *Chlorella* foi descrita pela primeira vez por Martinus Willem Beijerinck em 1890. Atualmente, o gênero *Chlorella* compreende diversas espécies e linhagens amplamente distribuídas em diferentes ambientes, apresentando elevada diversidade

taxonômica e considerável interesse biotecnológico, especialmente em aplicações relacionadas à produção de biomassa e metabólitos de interesse industrial (Je; Yamaoka, 2022). As espécies de *Chlorella* estão distribuídas em duas classes do filo Chlorophyta: Chlorophyceae e Trebouxiophyceae, evidenciando a diversidade taxonômica do grupo (Liu, Jin; Hu, 2013).

As células de *Chlorella* apresentam formato esférico a elipsoidal, com diâmetro variando entre 2 e 10 µm (Figura 1) , e reproduzem-se assexuadamente por meio da formação de autósporos. Essas características morfológicas simples, associadas à sua elevada eficiência metabólica, contribuem para seu amplo uso em aplicações biotecnológicas (Liu, Jin; Hu, 2013).

Figura 1. Microalga *Chlorella fusca* LEB 111.



Fonte: Banco de cepas do Laboratório de Engenharia Bioquímica.

Microalgas deste gênero apresentam elevada produtividade de biomassa , variando entre 0,2 e 1,5 g L^{-1} dia^{-1} e de macromoléculas, mesmo quando são submetidas a condições ambientais distintas, como altos valores de pH (> 9,0) (Rosa, Gabriel Martins da; Morais; Costa, 2018; Vaz, Bruna da Silva; Costa; Morais, 2016) salinidade de até 20 g L^{-1} (Sahle-Demessie; Aly Hassan; El Badawy, 2019), limitações de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (Jung *et al.*, 2015) e variações na luminosidade (Chunzhuk *et al.*, 2023). Além disso, *Chlorella* apresenta elevada capacidade de biofixação de CO_2, bem como potencial para a remediação de nutrientes em águas residuais (Maryjoseph; Ketheesan, 2020; Yadav; Dash; Sen, 2019), gases (CO_2, NO_x e SO_x) (Yadav; Dash; Sen, 2019) e contaminantes químicos (Maryjoseph; Ketheesan, 2020).

A biomassa dessa microalga apresenta alto teor proteico, podendo alcançar até 70% (m m^{-1}), além de elevadas concentrações de lipídios neutros, superiores a 50% (m m^{-1}), com

destaque para os triacilgliceróis (Liu, Jin; Hu, 2013). O teor de carboidratos pode variar em torno de 16% (m m^{-1}) sob condições ótimas de crescimento (Bauer *et al.*, 2017) podendo atingir até 70% quando a microalga é submetida à limitação de N e P no meio de cultivo (Margarites; Costa, 2014).

No contexto de cepas específicas, a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 foi isolada em lagoas de assentamento de cinzas da Usina Termelétrica Presidente Médici, que utilizava carvão mineral como combustível (Morais, E.G; Duarte, 2012). Essa cepa apresenta potencial biotecnológico devido à sua capacidade de produzir biomassa com composição bioquímica diversificada, incluindo proteínas, carboidratos e lipídios, cujos teores podem variar em função das condições de cultivo, da disponibilidade de nutrientes e da composição do meio. Em condições previamente reportadas para a cepa, foram observados elevados teores proteicos, próximos a 50% da biomassa seca, além de carboidratos em torno de 20% e lipídios próximos a 15%, evidenciando sua capacidade de adaptação metabólica frente a diferentes condições ambientais. Além disso, *C. fusca* LEB 111 apresenta tolerância ao cultivo em condições alcalinas e valores elevados de pH, característica relevante para sistemas de cultivo microalgal devido ao potencial de reduzir contaminações microbiológicas e favorecer a estabilidade do processo (Braga *et al.*, 2019; Duarte; Fanka; Costa, 2016).

De modo geral, o gênero *Chlorella* apresenta pH ótimo de crescimento em torno de 8,5 (Du *et al.*, 2012). Entretanto, em cultivos com *Chlorella fusca* LEB 111, o pH pode variar entre 8,0 e 10,5 (Braga *et al.*, 2019; Duarte; Fanka; Costa, 2016). Esses valores elevados estão associados ao ambiente de isolamento da microalga, no qual foram registrados pH superiores a 9,0 (Morais, E.G; Duarte, 2012).

3.2 CULTIVO DE MICROALGAS E FATORES NUTRICIONAIS DE CRESCIMENTO

As condições de cultivo desempenham um papel determinante no metabolismo das microalgas, influenciando diretamente a formação de compostos de interesse. Nesse contexto podem ser utilizadas condições consideradas ótimas, com o objetivo de maximizar a produção de biomassa, ou condições de estresse, voltadas ao acúmulo de metabólitos específicos. Com isso, fatores como a disponibilidade de nutrientes, intensidade luminosa, temperatura e pH promovem alterações na composição bioquímica das microalgas, podendo resultar no aumento da produtividade de biomoléculas de interesse (de Morais *et al.*, 2015; Lourenço, 2006).

Os meios de cultivo consistem em formulações químicas elaboradas para fornecer os nutrientes indispensáveis à sobrevivência e à multiplicação das microalgas, sendo esses nutrientes essenciais para o crescimento microalgal, pois devem suprir as exigências nutricionais do microrganismo, auxiliar no controle do processo e apresentar uma composição relativamente fixa (Schmidell *et al.*, 2002) Nesse contexto, as microalgas necessitam de macronutrientes para o seu crescimento, como o carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, enxofre e potássio, os quais são fundamentais por integrarem a estrutura das biomoléculas, membranas celulares e o meio intracelular, além de atuarem em processos de transferência de energia e na regulação de diferentes atividades metabólicas. Ademais, dentre os micronutrientes necessários, destacam-se o ferro, manganês, molibdênio, cobalto, zinco e cobre, os quais exercem função importante por integrarem a estrutura e a atividade de diversas enzimas associadas a diferentes vias metabólicas das microalgas (de Morais *et al.*, 2015; Lourenço, 2006).

A composição bioquímica das microalgas pode ser alterada por meio de modificações nas condições do cultivo, favorecendo a otimização dos sistemas produtivos destinados à obtenção de compostos de interesse comercial (Praveenkumar *et al.*, 2012). Quando esses microrganismos são submetidos a condições de estresse, como a redução de determinado nutriente, as microalgas tendem a alterar seu metabolismo, promovendo maior acúmulo de compostos de interesse, como lipídios, carboidratos, pigmentos e outros metabólitos (Morais, MG, 2006). Em condições ótimas de crescimento, as células da microalga direcionam o metabolismo para a síntese de proteínas, destinadas ao aumento da biomassa. Porém, em condições ótimas de crescimento, as células da microalga direcionam o metabolismo para a síntese de proteínas, destinadas ao aumento da biomassa. A presença de fatores limitantes, como a restrição de nutrientes, principalmente nitrogênio, variações de temperatura e intensidade luminosa, pode ocasionar o aumento da produção de lipídios, carboidratos e outros metabólitos, além de reduzir a taxa de crescimento da biomassa(Sukenik, 1999).

3.2.1 Influência do N no crescimento e na composição bioquímica das microalgas

O nitrogênio é um macronutriente fundamental no cultivo de microalgas, onde está diretamente relacionado com o crescimento celular e a síntese de biomoléculas, como as proteínas, lipídios e carboidratos (Maryjoseph; Ketheesan, 2020; Yodsuwan; Sawayama;

Sirisansaneeyakul, 2017). A concentração de nitrogênio no meio de cultivo exerce influência direta tanto na produção de biomassa quanto na composição bioquímica das microalgas. Em condições de disponibilidade adequada de nitrogênio, ocorre estímulo ao crescimento celular; em contrapartida, sua limitação tende a reduzir a taxa de crescimento e favorecer o acúmulo de lipídios (Van Vooren *et al.*, 2012).

O nitrogênio é fundamental para a síntese de proteínas, pigmentos e ácidos nucleicos, desempenhando um papel central no metabolismo microalgal. Além disso, a forma química e a concentração desse nutriente (como nitrato, amônio e ureia) podem ser condicionados para influenciar o crescimento celular, produção de biomassa e o acúmulo de compostos de interesse. Em condições de limitação de nitrogênio, podem ocorrer alterações no sistema fotossintético, como a clorose, refletindo o impacto direto desse nutriente na eficiência metabólica das mcroalgas (Li, Tao *et al.*, 2016).

As microalgas são capazes de assimilar nitrogênio em diferentes formas, como o nitrato, nitrito, amônio e ureia (Xu *et al.*, 2001). Dentre essas fontes, o nitrato é amplamente utilizado em meios de cultivo por apresentar maior estabilidade e menor impacto nas variações de pH, ao contrário de fontes amoniacais , que podem provocar alterações no meio e exercer efeitos tóxicos quando em concentrações elevadas (Procházková *et al.*, 2014).

Costa e*t al.* (2018) verificaram que a restrição desse nutriente em *Chlorella minutissima*, *Synechococcus subsalsus* e *Spirulina* sp. LEB 18 resultou na redução do teor proteico e no aumento da fração lipídica. Para *C. minutissima*, observou-se uma diminuição de aproximadamente 15% no conteúdo de proteínas, associada a um aumento de cerca de 40% nos lipídios. Além disso, a limitação de nitrogênio provocou redução da taxa de crescimento e da produtividade de biomassa em todas as espécies analisadas, sendo observadas reduções de aproximadamente 23% na taxa específica de crescimento e 20% na produtividade máxima de biomassa em *C. minutissima*, 39% e 93% em *Synechococcus subsalsus*, e 26% e 11% em *Spirulina* sp. LEB 18, respectivamente. Estudos relatam que a limitação de nitrogênio, em concentrações inferiores a aproximadamente 0,64 mmol L^{-1} no meio de cultivo, pode levar à redução na produtividade de biomassa e ao aumento no acúmulo de compostos lipídicos, como ácidos graxos polinsaturados (Xu *et al.*, 2001). Resultados semelhantes também foram reportados por (Li, J. *et al.*, 2022), que observaram alterações bioquímicas em *Chlorella vulgaris* submetida ao estresse por limitação de nitrogênio, incluindo redução do conteúdo proteico e aumento do acúmulo lipídico, bem como por (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023), que revisaram evidências sobre o papel da restrição de nitrogênio e fósforo na indução

da síntese de lipídios em diferentes espécies microalgais. Resultados similares foram observados em *Chlamydomonas reinhardtii*, onde a redução de nitrogênio no meio promoveu a redução no crescimento celular, acompanhada pelo aumento significativo na produção de lipídios (Yang *et al.*, 2018)

De forma complementar, estudos recentes demonstram que a disponibilidade e a fonte de nitrogênio exercem influência direta sobre o crescimento de microalgas do gênero *Chlorella*. Em *Chlorella sorokiniana*, a assimilação de diferentes fontes nitrogenadas afeta significativamente a taxa de crescimento e a produtividade de biomassa, uma vez que a utilização de nitrogênio está associada ao custo energético do metabolismo celular (Ansari *et al.*, 2025).

Resultados semelhantes foram reportados por (Ziganshina; Bulynina; Ziganshin, 2022) que observaram diferenças significativas no crescimento e na produtividade de biomassa de *Chlorella sorokiniana* cultivada com diferentes formas de nitrogênio (NH^{4+}, NO^{3-} e fontes orgânicas), sendo registradas taxas específicas de crescimento de até 1,26 d^{-1} e produtividade de biomassa entre 0,41 e 0,50 g L^{-1} d^{-1} em condições otimizadas. Adicionalmente, (Ossa; Gómez-Vanegas; Peñuela-Vásquez, 2022) demonstraram que alterações na disponibilidade de nitrogênio e na relação carbono:nitrogênio influenciam diretamente a produção de biomassa e o acúmulo de ácidos graxos em *Chlorella sorokiniana*, reforçando a importância do manejo nutricional no cultivo microalgal**.** Além disso, a forma de nitrogênio disponível no meio pode resultar em diferentes respostas fisiológicas, sendo observado que fontes como a ureia podem favorecer o crescimento celular em determinadas condições de cultivo, enquanto compostos amoniacais podem limitar o desenvolvimento da microalga (Yuniarti *et al.*, 2023).

3.2.2 Ureia como fonte alternativa de N no cultivo de microalgas

Diferentes fontes de nitrogênio podem ser utilizadas no cultivo de microalgas, incluindo nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), amônio (NH_4^+) e ureia [$(NH_2)_2CO$], sendo amplamente empregadas em sistemas de cultivo devido à sua disponibilidade e à capacidade de assimilação por diferentes espécies. A forma de nitrogênio fornecida ao cultivo influencia diretamente o crescimento celular e a composição bioquímica da biomassa, uma vez que cada fonte apresenta diferentes rotas metabólicas e custos energéticos de assimilação. Em geral, o amônio pode ser assimilado mais rapidamente por demandar menor gasto energético, enquanto o nitrato requer etapas adicionais de redução antes de sua incorporação. Já a ureia tem sido amplamente

utilizada como fonte alternativa de nitrogênio em cultivos de *Chlorella*, apresentando potencial para sustentar crescimento e produtividade de biomassa em diferentes condições de cultivo (Ansari *et al.*, 2025; Carletti *et al.*, 2024; Je; Yamaoka, 2022)

Em meios de cultivo, os sais de nitrato, especialmente o nitrato de sódio, são usualmente utilizados como única fonte de N, como no BG-11, comumente utilizado em estudos com *Chlorella*. O nitrato é assimilado pelas microalgas após a captação por transportadores específicos, que reduzem o nitrito pela nitrato redutase, sucedido pela incorporação aos aminoácidos por meio do ciclo GS-GOGAT (Caspi *et al.*, 2016). No entanto, devido ao custo e às limitações associadas ao uso de nitrato, fontes alternativas de nitrogênio vêm sendo investigadas, dentre as quais se destaca a ureia (Markou; Vandamme; Muylaert, 2014).

Nesse contexto, a ureia tem sido amplamente estudada como uma potencial fonte alternativa de nitrogênio para o cultivo de microalgas. A ureia é um composto de fácil disponibilidade comercial e amplamente utilizado na agricultura, destacando-se pelo baixo custo e pela elevada concentração de nitrogênio em sua composição. Estudos recentes têm demonstrado que sua utilização pode promover crescimento satisfatório e elevada produtividade de biomassa em diferentes espécies de microalgas, sendo considerada uma fonte eficiente e economicamente viável de nitrogênio em sistemas de cultivo (Slinksienė *et al.*, 2022; Yuniarti *et al.*, 2023) apresentando aproximadamente 46,7% de nitrogênio em sua estrutura (Rincon; Beyenal; Romero, 2024). A ureia é assimilada pelas microalgas após a sua captação por sistemas de transporte específicos, como o DUR3, que é o responsável pela internalização celular. No interior das células, esse composto é metabolizado através de uma via enzimática que envolve, de maneira sequenciada, a ureia carboxilase e a alofanato hidrolase, conduzindo a formação de duas moléculas de amônio NH_4^+ e CO_2. Essa via metabólica é dependente de ATP, além de demandar a presença dos íons Mg^{2+} e K^+ (Caspi *et al.*, 2016; Pinton; Tomasi; Zanin, 2016). Após ser assimilada, a ureia é metabolizada no interior celular em amônia e dióxido de carbono por vias metabólicas específicas, contribuindo não apenas como fonte de nitrogênio, mas também podendo estimular a atividade fotossintética em função da liberação de carbono inorgânico (Rincon; Beyenal; Romero, 2024).

Estudos relatam que o uso da ureia pode promover elevadas taxas de crescimento celular e produtividade de biomassa em espécies do gênero *Chlorella*, alcançando desempenhos similares ou superiores aos obtidos com meios de cultivo padrão (Ansari *et al.*, 2025). Resultados semelhantes também foram observados por (Molina-Miras *et al.*, 2023) no cultivo da microalga marinha *Amphidinium carterae* em fotobiorreatores, no qual a ureia utilizada

como fonte de nitrogênio promoveu cinética de crescimento comparável à obtida com nitrato, evidenciando o potencial dessa fonte nitrogenada para sustentar o crescimento microalgal e a produção de biomassa. Além disso, a substituição do nitrato por ureia pode reduzir significativamente os custos do meio de cultivo, tornando-se uma alternativa promissora para aplicações em larga escala (Yuniarti *et al.*, 2023).

Por outro lado, o desempenho de diferentes fontes de N está diretamente relacionado a espécie de microalga. Em cultivos de *Ellipsoidion* sp, o emprego de amônio resultou em maiores taxas de crescimento e maior concentração lipídica, quando comparado a cultivos com ureia e nitrato (Li, Tao *et al.*, 2016). Por outro lado, a espécie *Neochloris oleoabundans* apresentou maior taxa de crescimento e maior acúmulo de lipídios quando cultivada com nitrato, em comparação à ureia, enquanto o uso de amônio limitou o crescimento celular (Liu, Zhi-Yuan; Wang; Zhou, 2008). Estudos relataram que para *Spirulina platensis,* nitrato, amônio e ureia podem ser utilizados como fontes de N, sendo observada resposta positiva do crescimento celular quando a ureia foi utilizada (Danesi *et al.*, 2002; Matsudo *et al.*, 2009; Soletto *et al.*, 2005).

Estudos conduzidos com *Chlorella fusca* LEB 111 também demonstram que alterações na disponibilidade de nitrogênio influenciam diretamente o crescimento e a composição bioquímica celular. (Braga *et al.*, 2019) observaram que a redução do suprimento de nitrato de sódio ($NaNO_3$) modificou o perfil de macromoléculas produzidas pela biomassa, enquanto (Cassuriaga *et al.*, 2023) verificaram que diferentes níveis de disponibilidade de nitrogênio, associados à suplementação de carbono, afetaram a produtividade de biomassa e o acúmulo de biopolímeros, evidenciando a influência do manejo nutricional sobre o metabolismo da cepa.

3.2.2.1 Sustentabilidade econômica do uso de ureia no cultivo de microalgas

A viabilidade econômica representa um dos principais desafios para a ampliação dos sistemas de cultivo de microalgas em maior escala, uma vez que os custos associados ao meio de cultivo podem influenciar significativamente a competitividade do processo. Entre os nutrientes empregados, as fontes nitrogenadas representam parcela importante dos custos operacionais, tornando necessária a busca por alternativas economicamente acessíveis e tecnicamente eficientes. Nesse contexto, a ureia destaca-se como uma fonte promissora de nitrogênio devido à sua ampla disponibilidade comercial, elevada concentração de N e menor custo relativo quando comparada a fontes nitrogenadas convencionalmente empregadas em

meios sintéticos de cultivo. Além da redução dos custos relacionados ao fornecimento de nitrogênio, revisões recentes indicam que a otimização do uso de nutrientes e a substituição de insumos de maior custo constituem estratégias relevantes para aumentar a viabilidade econômica e a sustentabilidade de bioprocessos microalgais em larga escala (Bhatt *et al.*, 2022; Ezhumalai *et al.*, 2024; Yuniarti *et al.*, 2023).

Além da redução de custos associados ao fornecimento de nutrientes, revisões recentes sobre sustentabilidade e avaliação técnico-econômica de bioprocessos microalgais destacam que a otimização do uso de insumos, a redução de custos operacionais e a melhoria da eficiência dos sistemas de cultivo constituem estratégias fundamentais para ampliar a viabilidade econômica da produção microalgal. Nesse cenário, a substituição de fontes nitrogenadas mais onerosas por alternativas de menor custo, como a ureia, pode contribuir para sistemas de cultivo economicamente mais viáveis e alinhados a estratégias de sustentabilidade e bioeconomia circular (Bhatt *et al.*, 2022; Ezhumalai *et al.*, 2024).

3.2.3 Uso de fontes hídricas alternativas no cultivo de microalgas

O uso de fontes hídricas não convencionais tem se destacado como alternativa para tornar o cultivo de microalgas, em larga escala, sustentável especialmente em função das restrições associadas ao uso de água doce**.** Nesse contexto, as águas residuárias têm sido exploradas como meio de cultivo, uma vez que apresentam concentrações significativas de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, essenciais para o crescimento da biomassa microalgal. Estudos recentes indicaram que inúmeras espécies, incluindo as pertencentes ao gênero *Chlorella*, apresentam bom desempenho nesses sistemas, o que reduz a necessidade de suplementação nutricional externa e contribui para a diminuição dos custos do processo (Dias *et al.*, 2025).

ara além do fornecimento de nutrientes, o uso de águas residuárias no cultivo de microalgas possibilita a integração entre a produção de biomassa e o tratamento de efluentes, evidenciando uma abordagem alinhada aos princípios da economia circular. Nesse contexto, compostos nitrogenados e fosfatados presentes no efluente são assimilados pelas microalgas, promovendo simultaneamente a remoção de contaminantes e a recuperação de recursos na forma de biomassa (Álvarez-González *et al.*, 2023)

Estudos experimentais, conduzidos em escala piloto, reforçam essa abordagem evidenciando que o cultivo de microalgas em efluentes pode alcançar elevadas taxas de

crescimento celular e produtividade de biomassa. Estudos conduzidos por (Wan Mahari *et al.*, 2022) e (Álvarez-González *et al.*, 2023), Esses resultados indicam que a adaptação das condições de cultivo é essencial para otimizar o aproveitamento dessas fontes hídricas (Velásquez-Orta *et al.*, 2024).

Bezerra *et al*. (2022) avaliaram o crescimento da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 utilizando água subterrânea salobra como meio de cultivo, indicando a viabilidade do desenvolvimento microalga perante a esse recurso hídrico. Os resultaram mostraram que a *C. fusca* foi capaz de crescer e produzir biomassa mesmo em condições de elevada salinidade, corroborando o potencial do uso de águas não potáveis como alternativa para o uso em cultivos de microalgas. De forma complementar, Bezerra *et al.* (2023) avaliaram o potencial da água do mar como meio alternativo para o cultivo de microalgas, utilizando *Chlorella fusca* LEB 111, e observaram crescimento satisfatório e produção de biomassa. Os resultados indicaram que essa microalga foi capaz de se desenvolver em condições de elevada salinidade, além de apresentar produção de carboidratos, demonstrando a viabilidade do uso de fontes hídricas não potáveis no cultivo microalgal.

3.2.4 Concentrado de dessalinização

O concentrado de dessalinização (CD), também denominado salmoura ou rejeito salino, é um subproduto decorrente do processo de dessalinização de águas salinas, especialmente por osmose reversa. Esse efluente é caracterizado por apresentar elevadas concentrações de sais dissolvidos, resultantes da retenção de íons durante a separação da água permeada. Sua composição é formada por espécies iônicas como o cloreto (Cl^-), sódio (Na^+) e cálcio (Ca^{2+}), podendo conter nutrientes como nitrogênio e fósforo, magnésio (Mg^+), potássio (K^+), ferro (Fe^{3+}) e silício (Si), essenciais para o crescimento das microalgas (Al Bazedi *et al.*, 2023).

A condutividade elétrica do CD pode variar em função da origem da água e das condições operacionais do sistema de dessalinização, refletindo sua elevada carga salina. Em função dessa composição, o concentrado tem sido estudado com um meio alternativo para o cultivo de microalgas, uma vez que pode fornecer sais e nutrientes necessários para o crescimento celular (Al Bazedi *et al.*, 2023; Matos, Ângelo P.; Moecke; Sant'Anna, 2017). Estudos indicaram que espécies como *Chlorella vulgaris* foram capazes de crescerem nesse resíduo, evidenciando o potencial para a produção de biomassa a remoção de nutrientes presentes no efluente (Matos, Â P. *et al.*, 2018).

Estudos tem demonstrado o potencial do CD como meio alternativo para o cultivo de microalgas, incluindo a espécie do gênero *Chlorella*. Al Bazedi *et al.* (2023) destacaram que diferentes espécies microalgais, como *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*, *Spirulina platensis* e *Nannochloropsis oculata*, apresentaram capacidade de crescimento em meios salinos contendo concentrado de dessalinização, com salinidade frequentemente variando entre aproximadamente 10 e 70 g L^{-1} de sólidos dissolvidos totais (TDS), a depender da origem do concentrado e do grau de diluição empregado. Estudos conduzidos por (Maeng *et al.*, 2018) demonstraram o crescimento de *Scenedesmus quadricauda* em concentrado salino proveniente de osmose reversa, enquanto (Nguyen *et al.*, 2023) verificaram a adaptação de *Chlorella vulgaris* em condições de elevada salinidade associadas à dessalinização, reforçando o potencial dessas microalgas para utilização em meios não convencionais**.** Os autores relataram que esse tipo de efluente pode fornecer não apenas água, mas nutrientes suficientes para o crescimento microalgal, embora o desempenho esteja diretamente relacionado às condições de cultivo e à adaptação da espécie ao meio.

Matos *et al*. (2015) observaram em seu estudo a produção de biomassa de aproximadamente 0,59 g L^{-1} em meio composto por concentrado de dessalinização combinado ao meio convencional (Bold's Basal Medium – BBM), sendo a condição composta por cerca de 75% de BBM e 25% de CD. Esses resultados evidenciaram, que embora o concentrado de dessalinização apresente o potencial como meio de cultivo, a suplementação nutricional pode ser necessária para otimizar o crescimento microalgal.

Além disso, Do *et al*. (2021) relatou em seu estudo que as espécies do gênero *Chlorella* são capazes de se desenvolverem em concentrado de osmose reversa, promovendo simultaneamente a remoção de nutrientes presente nesse efluente. Os autores observaram que o cultivo de microalgas contribuiu para a redução de compostos nitrogenados e fosfatados, evidenciando o potencial desse sistema para integrar a produção de biomassa ao tratamento de efluentes.

3.3 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA

O Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB), vinculado à Escola de Química e Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), desenvolve pesquisas em biotecnologia de microalgas desde 1996, com enfoque na otimização de sistemas de cultivo e na obtenção de biomassa e biomoléculas de interesse biotecnológico. Associado ao LEB, o

Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MIBI) também atua em pesquisas relacionadas à biotecnologia microalgal, incluindo a obtenção e caracterização de biomassa e biocompostos, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias voltadas à produção de compostos de interesse para os setores de alimentos, biocombustíveis e biomateriais. Em conjunto, as pesquisas conduzidas pelos grupos abrangem a avaliação de diferentes condições de cultivo, fontes alternativas de nutrientes e sistemas sustentáveis para produção microalgal.

Nesse contexto, abordagens com foco econômico e ambiental vêm sendo investigadas, incluindo o uso de estratégias capazes de reduzir a demanda por nutrientes convencionais e ampliar o aproveitamento de recursos hídricos alternativos no cultivo microalgal. Estudos do grupo demonstraram, por exemplo, que a redução do suprimento de nitrogênio e a utilização de fontes complementares de carbono podem influenciar a composição bioquímica da biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111, evidenciando o potencial de estratégias de cultivo voltadas à redução de custos e otimização do processo (Braga *et al.*, 2019; Rosa, G. M.; Morais; Costa, 2019). Além disso, o emprego de água subterrânea salobra e do concentrado proveniente do processo de dessalinização mostrou potencial para o cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18, permitindo o crescimento microalgal e alterações na composição bioquímica da biomassa, especialmente no acúmulo de carboidratos, reforçando o potencial de recursos hídricos não convencionais para sistemas de cultivo mais sustentáveis (Duarte *et al.*, 2020; Mata *et al.*, 2020).

No presente estudo, o concentrado de dessalinização (CD) utilizado foi proveniente da unidade de dessalinização de água subterrânea salobra vinculada ao Programa Água Doce, localizada no Assentamento Jurema, município de Mossoró, Rio Grande do Norte. A utilização desse efluente foi proposta como alternativa para o aproveitamento de um recurso hídrico ainda pouco explorado em sistemas de cultivo microalgais, visando avaliar seu potencial no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111 associado ao uso de ureia como fonte alternativa de nitrogênio, em continuidade às estratégias investigadas pelo grupo voltadas à redução da demanda por nutrientes convencionais e à otimização das condições de cultivo, incluindo a modulação do suprimento de nitrogênio e o uso de fontes complementares de carbono para obtenção de biomassa e biomoléculas de interesse biotecnológico (Braga *et al.*, 2019; Rosa, G. M.; Morais; Costa, 2019)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MICROALGA E PREPARO DO INÓCULO

A microalga utilizada neste estudo foi *Chlorella fusca* LEB 111, isolada da lagoa de estabilização de efluentes e resíduos da Usina Termelétrica Presidente Médici (UTPM), localizada em Candiota, Brasil (latitude 24°36'13''S e longitude 52º32'43''W), pertencente ao banco de cepas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) e do Laboratório de Microbiologia e Bioquímica (MiBi) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Foram preparados três inóculos sob diferentes condições de meio de cultivo, mantidos em fotobiorreator (PBR) com volume de 5 L, sob temperatura controlada de 30 °C, fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro com lâmpadas fluorescentes, com agitação diária através de injeção de ar comprimido a 0,1 vvm ($v_{ar}\ v_{útil}^{-1}\ min^{-1}$) (Rosa, Ana Priscila Centeno da *et al.*, 2011), esterilizados por filtros contendo lã de vidro.

O primeiro inóculo foi mantido em meio BG-11, conforme metodologia estabelecida por (Rippka; Waterbury, 1977). O segundo inóculo foi preparado em meio BG-11 modificado, no qual o nitrato de sódio ($NaNO_3$) foi totalmente substituído por ureia como única fonte de nitrogênio. A concentração de ureia adicionada foi de 0,265 g L^{-1}, correspondente a 50% do nitrogênio fornecido pelo $NaNO_3$ presente no meio BG-11. O terceiro inóculo foi preparado em meio contendo ureia 50% (0,265 g L^{-1}) e 50% de concentrado de dessalinização (CD), sendo os nutrientes $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ e Na_2CO_3 removidos da formulação do meio BG-11, uma vez que já estavam presentes na composição do CD. Os inóculos preparados foram posteriormente utilizados para iniciar os experimentos descritos no item 4.2.

4.2 CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO

O concentrado de dessalinização (CD) foi proveniente da unidade de dessalinização de água subterrânea salobra vinculada ao Programa Água Doce, situada no Assentamento Jurema, no município de Mossoró, RN, Brasil (5º1'35,64" S, 37º19'24,74" O). O material foi coletado em bombonas com capacidade de 5 L e posteriormente encaminhado ao LEB da FURG. A caracterização físico-química do concentrado de dessalinização foi realizada no Laboratório de Análise de Solo, Água e Planta (LASAP), da Universidade Federal Rural do Semi-Árido

(UFERSA), em Mossoró, RN (Tabela 1)**.** Após o recebimento, o concentrado foi mantido sob refrigeração a 4 °C até o momento de sua aplicação nos cultivos.

Tabela 1. Composição iônica do concentrado de dessalinização.

Amostra	K^+ (mmolc/L)	Na^+ (mmolc/L)	Ca^{2+} (mmolc/L)	Mg^{2+} (mmolc/L)	Cl^- (mmolc/L)	CO_3^{2-} (mmolc/L)	HCO_3 (mmolc/L)
CD	14,9	545,6	605,6	95,6	0,00	0,00	364,8

CD = concentrado de dessalinização.

Fonte: LASAP (2025).

O concentrado de dessalinização foi pré-tratado com base no método descrito por Bezerra *et al*. (2020), com adaptações, visando reduzir o excesso de sais presentes no meio e adequá-lo às condições de cultivo microalgal. No procedimento original, emprega-se a adição de $NaHCO_3$ e NaOH para ajuste de pH e precipitação de íons, especialmente cálcio e magnésio. Neste estudo, a adição de $NaHCO_3$ foi substituída pela injeção de CO_2, na proporção de 8,81 ± 0,91 mL CO_2 mL^{-1} de meio. Essa substituição foi adotada considerando a capacidade de assimilação de CO_2 pela microalga, uma vez que a cepa foi isolada em ambiente associado à emissão desse gás, mas, principalmente, devido ao potencial de aplicação de fontes residuais de CO_2, o que pode representar uma alternativa economicamente mais viável e contribuir para a redução de custos do processo.

A injeção de CO_2 foi realizada utilizando medidor de vazão do tipo rotâmetro com flutuador de aço inox e difusor do tipo cortina de ar, mantendo vazões inferiores a 0,16 vvm, conforme descrito por (Moraes *et al.*, 2016). O preparo do meio foi conduzido em béqueres de 3 L, sob agitação constante promovida por agitador magnético.

A adição de NaOH (16 g L^{-1}) ocorreu em duas etapas: inicialmente, 12 g L^{-1} foram adicionados gradualmente durante a injeção de CO_2, de modo a manter o pH entre 7 e 10; posteriormente, após o término da injeção de CO_2 (pH aproximado de 8), foram adicionados os 4 g L^{-1} restantes para ajuste do pH final para 9,2. Em seguida, o meio foi mantido em estufa a 30 °C por, no mínimo, 2 h e posteriormente filtrado em papel filtro qualitativo, para remoção dos sais precipitados. Após a filtração, o pH foi ajustado para 8,5 por meio de nova injeção de CO_2, nas mesmas condições previamente estabelecidas (Faucher; Coupal; Leduy, 1979; Rosa, Gabriel Martins da *et al.*, 2015).

A etapa de pré-tratamento foi empregada com finalidade operacional, visando reduzir o excesso de sais presentes no concentrado dessalinizado, especialmente aqueles passíveis de precipitação durante o ajuste de pH. A eficiência de remoção dos íons cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}) não foi determinada neste estudo, sendo o procedimento realizado conforme adaptação metodológica baseada em (Bezerra *et al.*, 2020).

4.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO

Os ensaios foram realizados em duas etapas utilizando a microalga *Chlorella fusca* LEB 111, conduzidos sob as mesmas condições experimentais. Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores do tipo Erlenmeyer com capacidade de 1 L, volume útil de 0,9 L e concentração inicial de biomassa de 0,2 g L^{-1}. A concentração inicial foi ajustada com base na curva de crescimento previamente estabelecida para a microalga, por meio de cálculo proporcional do volume de inóculo necessário.

Os meios de cultivo foram previamente esterilizados em autoclave, enquanto a ureia foi esterilizada separadamente por exposição à radiação ultravioleta (UV) antes da adição ao meio. Os cultivos foram mantidos em câmara termostatizada a 30 °C, sob fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro (Reichert; Reinehr; Costa, 2006), com lâmpadas fluorescentes e intensidade luminosa de 50 μmol fótons m^{-2} s^{-1}. A aeração foi contínua, realizada por meio de mangueira simples conectada à rede de ar estéril do laboratório, com vazão aproximada de 450 mL ar min^{-1}, conforme descrito (Rosa, Gabriel Martins da *et al.*, 2016). Durante os cultivos, foi realizado monitoramento visual para verificação de possíveis alterações indicativas de contaminação, bem como reposição diária do volume evaporado com água destilada estéril.

Na primeira etapa, foi utilizado o inóculo cultivado em meio BG-11 modificado com ureia, sendo avaliado o efeito de diferentes concentrações dessa fonte nitrogenada, correspondentes a 25%, 50%, 75% e 100% do nitrogênio fornecido pelo $NaNO_3$ presente no meio BG-11 padrão. Nessas condições, o nitrato de sódio foi totalmente substituído por ureia, utilizada como única fonte de nitrogênio em diferentes concentrações equivalentes ao aporte nitrogenado do meio padrão. Os ensaios para os cultivos 1 e 2 foram conduzidos durante 20 dias e 15 dias, respectivamente.

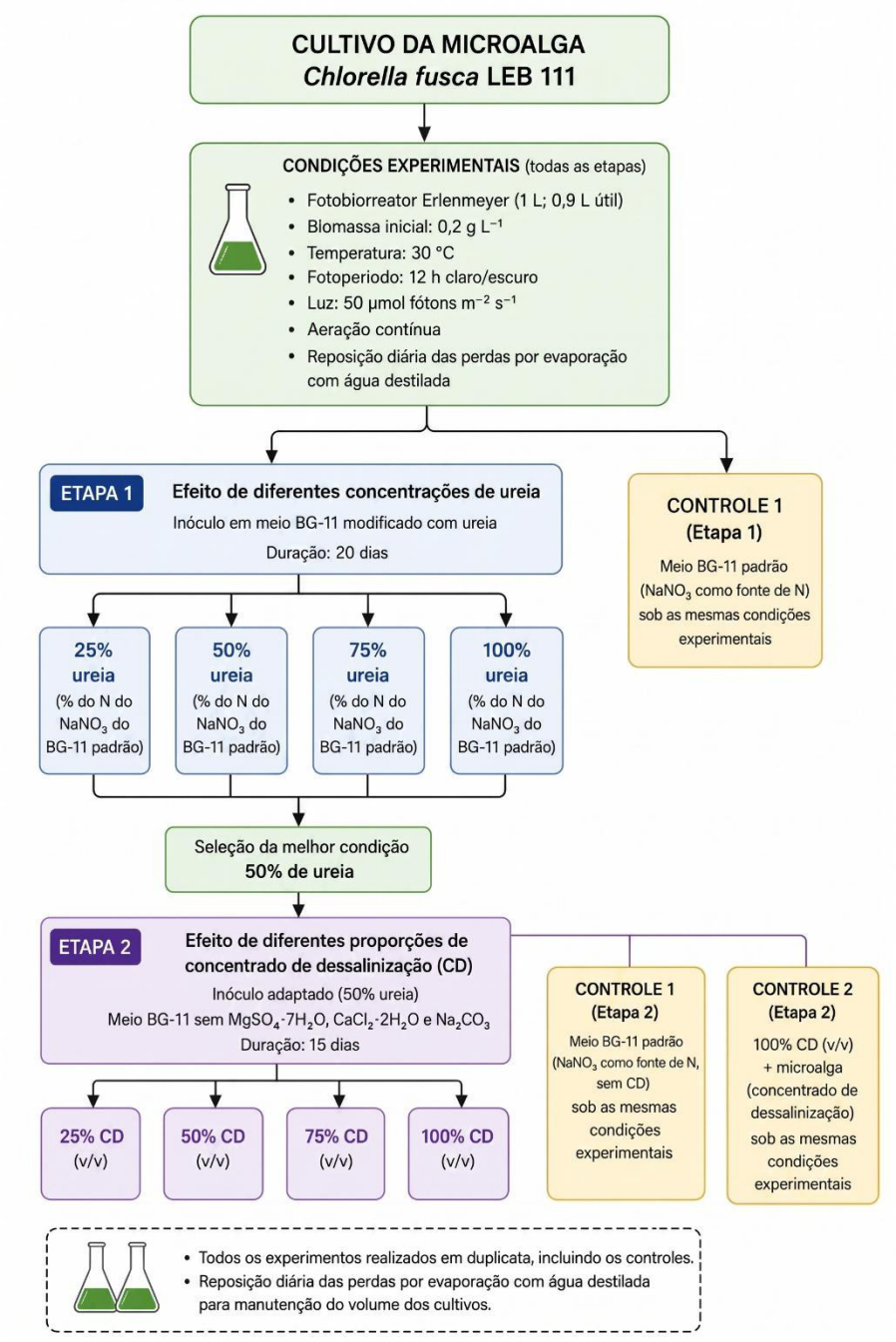
A partir dos resultados obtidos na primeira etapa, foi selecionada a condição correspondente a 50% do nitrogênio fornecido pela ureia, utilizada na segunda etapa do estudo.

Nesta fase, empregou-se o inóculo previamente adaptado a essa condição, sendo os ensaios conduzidos com meios contendo diferentes proporções de concentrado de dessalinização (25%, 50%, 75% e 100%, v v^{-1}), com o objetivo de avaliar o efeito do concentrado no cultivo microalgal.

O concentrado de dessalinização utilizado foi previamente submetido ao pré-tratamento descrito no item 4.2, visando reduzir o excesso de sais presentes no meio. O meio BG-11 foi utilizado como base, sendo removidos os sais $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ e Na_2CO_3, uma vez que estes já estavam presentes na composição do concentrado dessalinizado (Tabela 1). Não foi realizada quantificação da composição iônica do concentrado após o pré-tratamento.

Adicionalmente, foi conduzido um ensaio contendo apenas concentrado de dessalinização, sem adição de nutrientes suplementares, com substituição total da água doce, a fim de avaliar isoladamente o efeito desse meio sobre o crescimento microalgal. Os experimentos foram realizados em duplicata, incluindo-se um ensaio controle conduzido em meio BG-11 padrão.

Figura 2. Fluxograma experimental do cultivo da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 submetida a diferentes concentrações de ureia (Etapa 1) e proporções de concentrado de dessalinização (Etapa 2).



4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E pH DOS CULTIVOS

A concentração de biomassa foi determinada diariamente por meio da leitura da densidade óptica das culturas em espectrofotômetro (Shimadzu UV/VIS UVmini-1240, Japão), no comprimento de onda de 670 nm, utilizando-se uma curva padrão (Equação 1) previamente estabelecida para *Chlorella fusca* LEB 111, correlacionando a densidade óptica com a massa seca da biomassa. A mesma curva padrão foi utilizada para todos os cultivos realizados neste estudo. Como branco analítico, foi empregado o meio BG-11 controle. O pH dos cultivos foi monitorado diariamente por leitura direta em pHmetro digital (Mettler Toledo FiveGo™, Suíça).

Para avaliação da atividade fotossintética das células, foi monitorado diariamente o parâmetro Fv/Fm, correspondente à eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II. Para essa análise, amostras de 3 mL de cultivo foram transferidas para cubetas e mantidas na ausência de luz por 15 min, sendo posteriormente submetidas à leitura em fluorímetro (Photon Systems Instruments AquaPen AP100, República Tcheca), conforme metodologia descrita por (Ippoliti *et al.*, 2016).

$$y = 0{,}3404x - 0{,}0013 \quad (1)$$

4.5 RESPOSTAS AVALIADAS

A concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$, g L^{-1}) foi obtida a partir dos valores de concentração celular determinados ao longo do cultivo. A produtividade de biomassa (P_x, mg L^{-1} d^{-1}) foi calculada com base na variação da concentração de biomassa ao longo do tempo, conforme a Equação 2, em que X_t representa a concentração de biomassa (mg L^{-1}) no tempo t (d) e X_0 corresponde à concentração de biomassa (mg L^{-1}) no tempo inicial t_0 (d) (Bailey; Ollis, 1986).

$$P = \frac{X_t - X_0}{t - t_0} \quad (2)$$

A velocidade específica máxima de crescimento (μ_{max} d^{-1}) foi obtida a partir do ajuste exponencial dos dados da fase logarítmica de crescimento. O tempo de geração (t_g) que corresponde ao tempo necessário para a duplicação celular, foi determinado de acordo com a Equação 3, conforme Bailey; Ollis (1986).

$$t_g = \frac{ln2}{\mu_{máx}} \quad (3)$$

4.6 RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL

Ao final dos cultivos, a biomassa da microalga foi separada do meio por centrifugação (HITACHI, Himac CR-GIII, Japão) a 9000 x g, a 20ºC por 20 min. O material sedimentado foi ressuspendido com 400 mL de água destilada e novamente centrifugado nas mesmas condições anteriores, com o objetivo de remover os sais residuais do . Posteriormente, a biomassa foi congelada em ultra freezer, a -80 ºC, por 72 h seguida de liofilização por 48 h. As amostras liofilizadas foram identificadas e armazenadas a -20 ºC para posterior análise (Rosa, Gabriel Martins da *et al.*, 2015).

4.6.1 Caracterização da biomassa

As determinações dos teores de proteínas e carboidratos foram realizadas a partir dos extratos obtidos da biomassa. Para o preparo dos extratos, 10 mg de biomassa foram suspensos em 20 mL de água destilada e submetidos à sonicação em sonda ultrassônica (Cole-Parmer CPX 130, Illinois, EUA).

O teor de carboidratos foi determinado pelo método fenol-sulfúrico, utilizando glicose como padrão para a construção da curva de calibração, conforme metodologia descrita por DuBois *et al.*(1956). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu UV/VIS UVmini-1240, Japão), no comprimento de onda de 488 nm.

A quantificação de proteínas foi realizada por método colorimétrico descrito por Lowry *et al.* (1951), incluindo uma etapa de tratamento térmico e alcalino para a solubilização de proteínas insolúveis. A concentração de proteínas foi determinada a partir de curva padrão de albumina de soro bovino, com leituras realizadas em espectrofotômetro a 750 nm.

A concentração de lipídios foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Marsh e Weinstein (1966), utilizando clorofórmio e metanol como solventes de extração. A quantificação lipídica foi realizada por meio de curva padrão de tripalmitina, com leituras espectrofotométricas realizadas no comprimento de onda de 375 nm.

O teor de umidade foi determinado de acordo com metodologia da AOAC (2000), com adaptações.

4.7 ANÁLISE DE DADOS

Os resultados obtidos nos ensaios experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando identificadas diferenças significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$), correspondente a 95% de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EFEITO DA UREIA NO CRESCIMENTO CELULAR, NA EFICIENCIA FOTOSSINTETICA E pH

O perfil de concentração de biomassa de *C. fusca* LEB 111 sob diferentes concentrações de ureia (25%, 50%, 75% e 100%), além do Controle, ao longo de 20 dias de cultivo, é apresentado na Figura 1A. Observa-se que, até aproximadamente o quarto dia de cultivo, os tratamentos apresentaram comportamento semelhante. A partir desse período, especialmente na condição contendo 100% de ureia, observou-se tendência de menor incremento da biomassa, enquanto as demais concentrações de ureia apresentaram aumento gradual da concentração de biomassa, sem evidências de fase lag pronunciada, mesmo nas condições em que a ureia foi utilizada como única fonte de nitrogênio, sugerindo rápida adaptação metabólica de *C. fusca* LEB 111 a essa fonte nitrogenada. A partir desse período, os cultivos contendo concentrações intermediárias de ureia apresentaram aumento gradual da concentração de biomassa, com destaque para o tratamento com 50%, que apresentou maior inclinação da curva de crescimento (Figura 1A).

Entre o quarto e o décimo terceiro dia, os cultivos contendo concentrações de ureia de 25% e 50% apresentaram aumento gradual da concentração de biomassa, com maiores valores observados para o tratamento com 50% de ureia ($p < 0,05$). A partir do décimo quinto dia, o tratamento com 50% de ureia apresentou maior concentração de biomassa em comparação ao tratamento controle e ao tratamento com 100% de ureia ($p < 0,05$), atingindo as maiores concentrações de biomassa ao final do cultivo. Por outro lado, o cultivo com a maior concentração de ureia (100%) demonstrou menor desempenho ao longo de todo o experimento ($p < 0,05$), com crescimento mais limitado a partir do sexto dia, o que pode indicar possível efeito inibitório em concentrações mais elevadas (Figura 1A).

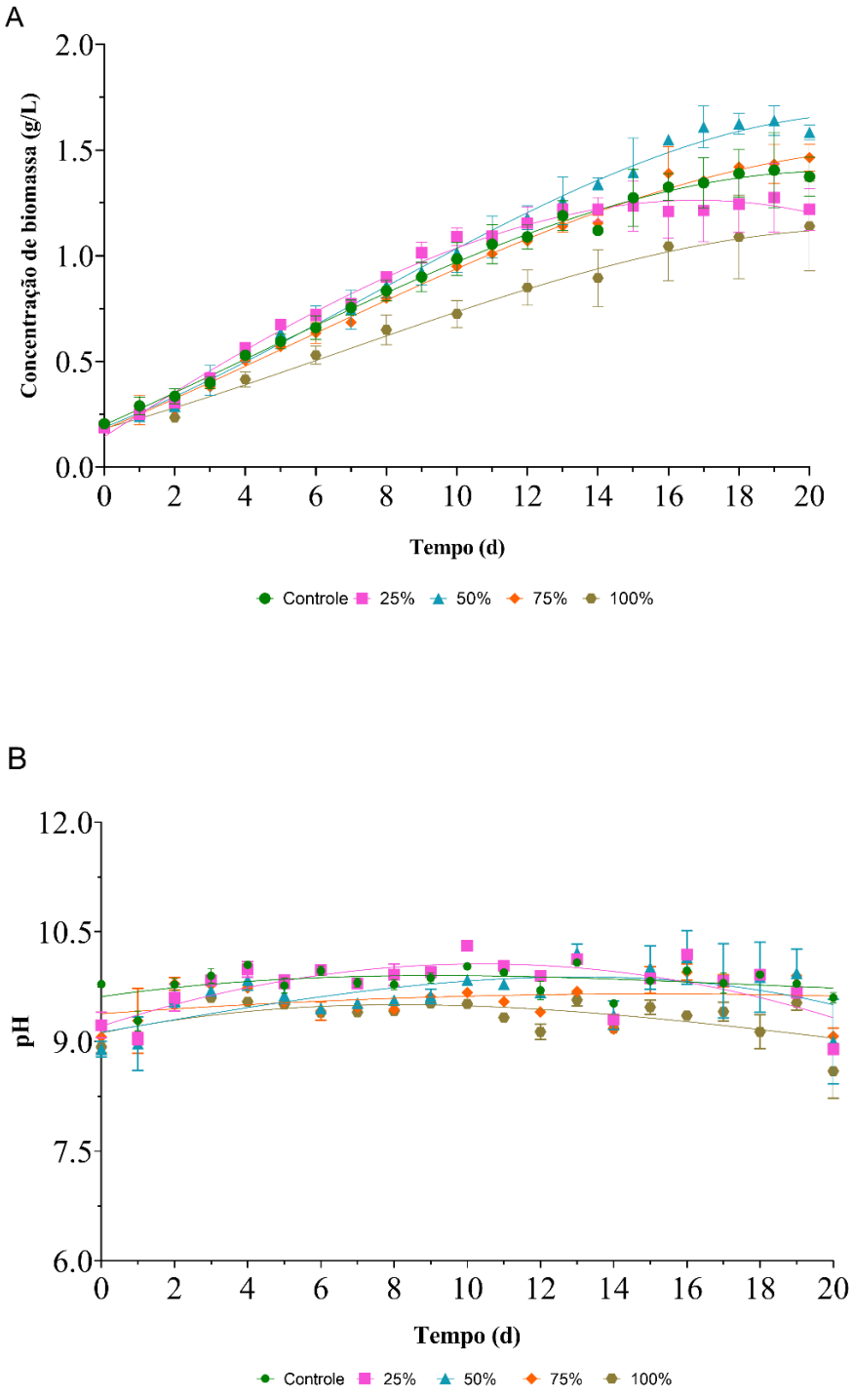
Entre o décimo sexto e o décimo sétimo dia, observa-se tendência de estabilização das curvas de crescimento para todos os tratamentos, caracterizando o início da fase estacionária, especialmente mais evidente nos cultivos com 25%, 75% e 100% de ureia. Além disso, independentemente da condição avaliada, todos os cultivos apresentaram declínio na concentração de biomassa a partir do décimo nono dia, caracterizando a fase de morte celular. Esse comportamento pode ser explicado pela limitação progressiva de fatores essenciais ao crescimento ao longo do cultivo. A estabilização das curvas entre o décimo sexto e o décimo sétimo dia, caracterizando o início da fase estacionária, sugere que, embora houvesse

disponibilidade de nitrogênio proveniente da ureia, outros nutrientes do meio, como fósforo e micronutrientes, podem ter se tornado limitantes ao metabolismo celular.

Em cultivos microalgais, a fase estacionária é frequentemente associada ao esgotamento gradual de nutrientes e a alterações bioquímicas celulares, reduzindo o crescimento líquido da biomassa**.** Adicionalmente, o aumento da densidade celular ao longo do cultivo pode ter intensificado o efeito de autossombreamento, reduzindo a disponibilidade de luz entre as células e, consequentemente, a eficiência fotossintética. O aumento da biomassa durante a fase estacionária pode ainda intensificar limitações luminosas e favorecer estresse fisiológico e fotoinibição em parte da população celular, especialmente sob limitação simultânea de nutrientes. Considerando que o pH do meio permaneceu entre 9 e 10, é plausível que parte do nitrogênio amoniacal oriundo da hidrólise da ureia tenha sido convertida em amônia livre (NH_3), potencialmente contribuindo para condições menos favoráveis ao crescimento celular, uma vez que valores elevados de pH favorecem o equilíbrio NH_4^+/NH_3 e a amônia livre pode reduzir a atividade fotossintética em microalgas. O declínio da biomassa observado a partir do décimo nono dia também pode estar associado ao esgotamento de nutrientes, ao acúmulo de metabólitos potencialmente inibitórios e ao aumento do estresse fisiológico celular, culminando em senescência e redução da biomassa microalgal (Salbitani; Carfagna, 2021; Tao *et al.*, 2022).

.

Figura 3. (A) Concentração de biomassa (g L^{-1}) de *Chlorella fusca* LEB 111 ao longo do cultivo sob diferentes concentrações de ureia e (B) variação do pH durante o cultivo. Ensaios com (●) Controle, (■) 25% de ureia, (▲) 50% de ureia, (◆) 75% de ureia e (⬟) 100% de ureia.



O pH manteve-se estável ao longo do cultivo, apresentando valores alcalinos, entre 9 e 10 (Figura 3). Observa-se que todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhante ao longo do tempo, com oscilações pequenas, sem tendência clara a acidificação ou alcalinização, associada ao aumento da concentração de ureia.

Esse comportamento indicou que a substituição da fonte de nitrogênio não influenciou significativamente a dinâmica do pH do meio de cultivo, uma vez que valores semelhantes foram observados entre os tratamentos. Esse comportamento pode estar relacionado à atividade fotossintética das microalgas, que consomem CO_2 dissolvido no meio e contribuem para a elevação do pH. Embora a hidrólise da ureia possa resultar na formação de amônia e potencialmente influenciar a alcalinização do meio, concentrações elevadas dessa fonte nitrogenada podem também resultar no acúmulo de compostos amoniacais potencialmente tóxicos, afetando o crescimento celular e a atividade metabólica microalgal. No entanto, não foram observadas evidências que permitam atribuir esse efeito diretamente às diferentes concentrações de ureia nas condições avaliadas.

A manutenção do pH em valores alcalinos (9 - 10) sugere predominância de processos alcalinizantes no sistema, enquanto o declínio da biomassa observado a partir do décimo nono dia, caracterizando a fase de decréscimo, pode estar associado à depleção de nutrientes, acúmulo de metabólitos e estresse fisiológico celular. Isso pode ser explicado pela atuação conjunta da fotossíntese e do sistema tampão do meio de cultivo, que contribuíram para a manutenção da estabilidade do pH (Markou; Vandamme; Muylaert, 2014).

A microalga *Chlorella fusca* LEB 111 apresenta crescimento favorável em pH alcalino (acima de 9,0). Essa característica pode estar associada à sua adaptação ao ambiente de origem, uma lagoa de sedimentação de cinzas de usina termelétrica (Duarte *et al.*, 2017), o qual pode apresentar condições adversas, incluindo variações de pH. Essa adaptação pode explicar a manutenção do crescimento mesmo em condições alcalinas, diferenciando essa cepa de outras microalgas que apresentam melhor desempenho em faixas próximas à neutralidade.

A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (Fv/Fm) (Tabela 2) apresentou diferenças entre os tratamentos no início do cultivo, sendo observados valores mais elevados no controle em comparação aos cultivos com ureia. Esse resultado indica que a substituição da fonte de nitrogênio pode influenciar o estado fisiológico inicial das células, afetando temporariamente a eficiência do aparato fotossintético.

Estudos conduzidos por (Yong *et al.*, 2019) , (Liu, Tan *et al.*, 2022) e (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023) demonstram que a disponibilidade e a forma de nitrogênio

exercem influência direta sobre a atividade fotossintética em microalgas. Em *Chlorella* sp., a limitação de nitrogênio resulta em redução dos valores de Fv/Fm, evidenciando comprometimento da eficiência do fotossistema II e alterações no metabolismo fotossintético (Yong *et al.*, 2019).(Liu, Tan *et al.*, 2022)**,** ao avaliarem *Chlorella vulgaris* sob estresse por nitrogênio, também relataram alterações fisiológicas e bioquímicas associadas à redução do aparato fotossintético e ao redirecionamento do metabolismo celular, enquanto (Maltsev; Kulikovskiy; Maltseva, 2023) discutem que a restrição de nitrogênio compromete a síntese de proteínas fotossintéticas e favorece a redistribuição do nitrogênio intracelular para funções essenciais. Esse comportamento está associado à redução de componentes do aparato fotossintético e à redistribuição do nitrogênio celular para funções essenciais.

Tabela 2. Resultados do início (0 d) e fim (20 d) de eficiência fotossintética (Fv/Fm) de *C. fusca* LEB 111**.**

Parâmetro	Dia	Controle	25%	50%	75%	100%
Fv/Fm	0	$0,76^{a} \pm 0,01$	$0,67^{b} \pm <0,01$	$0,68^{b} \pm 0,00$	$0,68^{b} \pm 0,01$	$0,67^{b} \pm 0,01$
	20	$0,71^{a} \pm <0,01$	$0,71^{a} \pm 0,01$	$0,71^{a} \pm 0,01$	$0,73^{a} \pm 0,01$	$0,75^{a} \pm 0,04$

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Os valores de Fv/Fm observados permaneceram acima de 0,6 em todos os tratamentos, indicando manutenção da eficiência fotoquímica do fotossistema II e ausência de comprometimento severo da atividade fotossintética, mesmo sob diferentes concentrações de ureia. Em microalgas cultivadas, valores de Fv/Fm entre aproximadamente 0,6 e 0,8 são frequentemente associados a células fisiologicamente ativas e com aparato fotossintético funcional, enquanto reduções nesse parâmetro podem indicar condições de estresse ou limitação nutricional (Jiao; Hu, 2025; Lovio-Fragoso *et al.*, 2021).

No presente estudo, embora tenha sido observada diferença inicial entre o controle e os tratamentos com ureia, os valores de Fv/Fm tornaram-se semelhantes ao final do cultivo. Esse comportamento sugere que, após a adaptação às condições do meio, as células foram capazes de manter a eficiência fotoquímica em níveis comparáveis ao controle, indicando que a

utilização de ureia não comprometeu a atividade fotossintética a longo prazo nas condições avaliadas.

Os resultados de concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$), produtividade máxima de biomassa ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e tempo de geração (tg) dos ensaios realizados podem ser verificados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$), Produtividade máxima de biomassa ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e tempo de geração (t_g) nos tratamentos com ureia durante os 20 dias de cultivo.

Parâmetro	Controle	25%	50%	75%	100%
$X_{máx}$ (g L^{-1})	$1,4^{ab} \pm 0,2$	$1,3^{ab} \pm 0,1$	$1,7^{a} \pm 0,01$	$1,5^{ab} \pm 0,06$	$1,1^{b} \pm 0,2$
$P_{máx}$ (mg L^{-1} d^{-1})	$81,5^{ab} \pm 4,1$	$99,3^{a} \pm 7,3$	$90,5^{a} \pm 9,9$	$79,6^{ab} \pm 0,9$	$61,2^{b} \pm 5,8$
µmáx (d^{-1})	$0,19^{a} \pm 0,02$	$0,25^{a} \pm 0,05$	$0,24^{a} \pm 0,03$	$0,22^{a} \pm 0,01$	$0,16^{a} \pm 0,02$
tg (d)	$3,7^{a} \pm 0,4$	$2,8^{a} \pm 0,5$	$2,9^{a} \pm 0,4$	$3,2^{a} \pm 0,2$	$4,3^{a} \pm 0,5$

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

O tratamento contendo 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) apresentou maior concentração de biomassa, alcançando 1,7 g L^{-1}. Além disso, foi observado diferença estatística entre os tratamentos com 50% e 100% de ureia (0,5295 g/L^{-1}), sendo que a condição com 100% apresentou menor concentração máxima de biomassa. (Hsieh; Wu, 2009) também observaram efeito positivo da ureia sobre o crescimento de *Chlorella* sp., relatando concentração de biomassa de 2,027 g L^{-1} após seis dias de cultivo utilizando 0,2 g L^{-1} de ureia. Embora os valores obtidos diferenciem-se dos observados no presente estudo, os resultados reforçam que concentrações adequadas de ureia podem favorecer o crescimento celular, possivelmente em função do fornecimento suficiente de nitrogênio sem atingir níveis potencialmente inibitórios.

Por outro lado, concentrações elevadas de ureia, superiores a aproximadamente 0,3 g L^{-1}, podem favorecer o acúmulo de nitrogênio amoniacal no meio em decorrência de sua

hidrólise, especialmente em condições alcalinas, o que pode resultar em efeitos inibitórios sobre o crescimento microalgal e alterações metabólicas. Esse efeito está associado à formação de amônia livre (NH_3), cuja toxicidade tende a aumentar em pH elevados, embora a resposta varie conforme a espécie e as condições de cultivo (Jiang *et al.*, 2021; Salbitani; Carfagna, 2021). Em *Amphidinium carterae*,(Molina-Miras *et al.*, 2023) observaram tolerância ao cultivo com ureia até essa concentração, indicando que valores mais elevados podem comprometer o desempenho fisiológico celular.

Em condições de pH mais elevado, esse equilíbrio é deslocado para a formação de amônia livre (NH_3), que apresenta maior toxicidade às células microalgais. A presença de amônia em excesso pode interferir em processos metabólicos e fotossintéticos, afetando o crescimento celular. Nesse contexto, níveis elevados de nitrogênio amoniacal têm sido associados à inibição do crescimento microalgal, efeito que pode estar relacionado à redução da atividade fotossintética, incluindo impactos sobre o fotossistema II (PSII), responsável pela etapa inicial da fotossíntese luminosa e pela geração de elétrons a partir da fotólise da água (Salbitani; Carfagna, 2021; Wang *et al.*, 2019).

Adicionalmente, o estudo conduzido por Khalili *et al*. (2015) avaliou diferentes fontes e concentrações de nitrogênio no cultivo de *Chlorella vulgaris*, verificando que a ureia proporcionou o melhor desempenho entre as condições testadas. Ao longo de 7 dias de cultivo, a concentração de 0,25 g L^{-1} de ureia resultou na maior produção de biomassa (1,23 g L^{-1}). Esses resultados evidenciam que a ureia pode ser uma fonte eficiente de nitrogênio para microalgas, possivelmente devido à sua rápida assimilação após hidrólise, liberando amônio diretamente disponível para o metabolismo celular, com menor gasto energético em comparação a outras fontes nitrogenadas, como o nitrato. Dessa forma, o controle da concentração de ureia torna-se fundamental para maximizar o desempenho do cultivo.

A produtividade máxima apresentou diferença entre as concentrações de ureia avaliadas (Tabela 3). Os tratamentos contendo 25% (99,30 ± 7,24 mg L^{-1} d^{-1}) e 50% de ureia (90,47 ± 9,86 mg L^{-1} d^{-1}) apresentaram os maiores valores observados, sem diferença significativa entre si ($p > 0,05$), enquanto o tratamento com 100% de ureia apresentou menor produtividade máxima (61,21 ± 5,80 mg L^{-1} d^{-1}), diferindo significativamente dos tratamentos de 25% e 50% ($p < 0,05$). Esse comportamento foi acompanhado pela velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$), cujos valores variaram entre os tratamentos, sendo observados 0,25 ± 0,05 d^{-1} e 0,24 ± 0,03 d^{-1} para 25% e 50% de ureia, respectivamente, em comparação ao controle (0,19 ± 0,02 d^{-1}) e ao tratamento com 100% de ureia (0,16 ± 0,02 d^{-1}). As diferenças observadas

devem ser interpretadas de acordo com a análise estatística apresentada na Tabela 3.No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Ainda assim, em conjunto com os resultados de produtividade, observa-se que concentrações intermediárias de ureia apresentaram tendência de favorecer o desempenho do cultivo.

Ao longo do cultivo, os tratamentos passaram a apresentar diferenças no crescimento. O tratamento com 50% de ureia apresentou maior incremento de biomassa em comparação aos demais tratamentos, atingindo a maior concentração no 19º dia de cultivo (≈1,7 g L^{-1}). Os tratamentos com 25% e 75% também apresentaram crescimento expressivo, com concentrações finais próximas, enquanto a condição com 100% apresentou menor desempenho ao longo do cultivo. Esses resultados sugerem que concentrações intermediárias de ureia favoreceram o crescimento microalgal, enquanto concentrações mais elevadas podem ter exercido efeito inibitório sobre o metabolismo celular.

Resultados similares foram observados por Choochote *et al*. (2010), que demonstraram que concentrações elevadas de ureia (≥ 0,5 g L^{-1}) estão associadas à redução do crescimento, efeito atribuído a toxicidade do amônio gerado a partir da rápida hidrólise da ureia. De forma semelhante, Kaur; Mahajan; Bhatia, (2017) observaram que o aumento na concentração de ureia favorece o crescimento microalgal até determinado limite, onde concentrações superiores a 0,5 g L^{-1} resultaram na redução da biomassa da *Chlorella pyrenoidosa* devido a toxicidade por amônio. Esse comportamento está atrelado ao fato de que a ureia é rapidamente convertida em amônio e CO_2 no meio do cultivo, podendo levar ao acúmulo de amônio em concentrações elevadas. De acordo com os autores, esse acúmulo pode provocar alterações no pH do meio, inibir processos metabólicos essenciais, como a síntese de ATP nos cloroplastos, comprometendo o crescimento das células.

5.2 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA

A Tabela 4 apresenta a composição da biomassa microalgal cultivada em diferentes concentrações de ureia no meio de cultivo. Foram determinados os teores de lipídios, carboidratos, proteínas e umidade, a fim de avaliar a influência da fonte e da disponibilidade de nitrogênio sobre a composição da biomassa.

Tabela 4. Composição bioquímica da biomassa microalgal cultivada sob diferentes concentrações de ureia no meio de cultivo.

Parâmetros	Controle	25%	50%	75%	100%
Lipídios (% m m^{-1})	$29,63^{a} \pm 2,61$	$29,94^{a} \pm 2,33$	$31,59^{a} \pm 3,33$	$28,26^{a} \pm 2,63$	$27,54^{a} \pm 2,63$
Carboidratos (% m m^{-1})	$24,50^{c} \pm 1,07$	$30,94^{b} \pm 2,61$	$36,02^{a} \pm 1,45$	$28,86^{b} \pm 2,12$	$20,27^{d} \pm 1,81$
Proteínas (% m m^{-1})	$36,43^{b} \pm 1,18$	$26,34^{c} \pm 1,56$	$45,26^{a} \pm 1,50$	$45,13^{a} \pm 2,13$	$46,24^{a} \pm 4,84$

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Os teores de lipídios não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos avaliados ($p > 0,05$), indicando que a variação na concentração de ureia não influenciou o acúmulo lipídico na biomassa microalgal nas condições estudadas. Apesar de pequenas variações nos valores observados, os tratamentos não apresentaram diferença estatística significativa, evidenciando que o metabolismo lipídico não foi influenciado pelas alterações na disponibilidade de nitrogênio nas condições avaliadas.

Esse comportamento sugere que a redução da disponibilidade de nitrogênio nas condições avaliadas não foi suficiente para induzir alterações significativas no metabolismo lipídico da microalga. A limitação de nitrogênio é frequentemente reportada como um dos principais fatores associados à indução da lipogênese em microalgas, favorecendo o redirecionamento do carbono para o acúmulo de compostos de reserva, como lipídios (Hu *et al.*, 2008).

Entretanto, esse efeito depende da intensidade do estresse imposto, da espécie microalgal e das condições de cultivo. Assim, a ausência de diferenças significativas no teor lipídico observada neste estudo pode indicar que a disponibilidade de nitrogênio ainda foi suficiente para a manutenção do metabolismo celular, sem induzir resposta lipogênica expressiva. Em contrapartida, (Converti *et al.*, 2009) , ao avaliarem diferentes concentrações de nitrogênio (1,50; 0,75 e 0,375 g L^{-1} de $NaNO_3$) no cultivo de microalgas, observaram que a redução da disponibilidade desse nutriente não afetou significativamente o crescimento, mas promoveu aumento expressivo no teor de lipídios, evidenciando que a indução da lipogênese por limitação de nitrogênio pode ocorrer sob condições de estresse mais pronunciadas do que as observadas no presente estudo.

Os teores de carboidratos foram significativamente influenciados pela concentração de ureia ($p \leq 0,05$), sendo o tratamento com 50% de ureia estatisticamente superior aos demais. Os tratamentos com 25% e 75% não diferiram entre si, apresentando valores intermediários, enquanto os tratamentos Controle e com 100% de ureia apresentaram os menores teores.

Os resultados obtidos indicam que concentrações intermediárias de nitrogênio favorecem o acúmulo de carboidratos. Esse comportamento pode ser explicado pelo redirecionamento metabólico do carbono em resposta à disponibilidade de nitrogênio. Em condições de maior disponibilidade desse nutriente, o carbono assimilado é prioritariamente direcionado para o crescimento celular e síntese de proteínas. Por outro lado, sob redução na concentração de nitrogênio, ocorre limitação do crescimento, levando ao acúmulo de compostos de reserva, como carboidratos. Esse comportamento está associado à limitação de nutrientes, condição na qual ocorre alteração no metabolismo celular, resultando no redirecionamento do carbono para a síntese de compostos de reserva, como carboidratos (Markou *et al.*, 2013). Entretanto, a ocorrência simultânea de elevados teores de proteínas e carboidratos sugere que a limitação de nitrogênio não foi suficientemente severa para restringir de forma expressiva a síntese proteica, permitindo a manutenção do metabolismo celular concomitantemente ao direcionamento parcial do carbono assimilado para o acúmulo de compostos de reserva.

Os teores de proteínas foram significativamente maiores nos tratamentos com 50%, 75% e 100% de ureia, que não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) (Tabela 4). Esses resultados evidenciam a influência da disponibilidade de nitrogênio sobre a síntese proteica na biomassa microalgal. Além disso, a maior concentração proteica observada nesses tratamentos, em comparação ao controle, sugere que não apenas a quantidade, mas também a fonte de nitrogênio pode influenciar esse processo. Em cultivos de *Chlorella* em meio BG-11 padrão, foram reportados teores de 36,13 ± 2,1% de proteínas, 33,2 ± 1,3% de carboidratos e 21,84 ± 0,5% de lipídios na biomassa seca, evidenciando que a composição do meio e a disponibilidade de nutrientes influenciam diretamente a composição bioquímica microalgal (Mohanty; Mohanty, 2023). Resultados semelhantes foram observados por Ribeiro *et al*. (2020) que verificaram maiores teores de proteínas no cultivo de *Chlorella sorokiniana* utilizando ureia (44,57%) e a combinação de ureia, amônio e nitrato (44,63%), em comparação ao uso exclusivo de nitrato (41,67%). Esse comportamento indica que a forma de nitrogênio disponível pode influenciar a assimilação desse nutriente e sua incorporação em aminoácidos e proteínas. Esse efeito está relacionado ao papel do nitrogênio como componente essencial de aminoácidos, proteínas e

outras biomoléculas celulares (Becker, 2007). Em contrapartida, a limitação desse nutriente pode levar à redução do conteúdo proteico em microalgas (Illman; Scragg; Shales, 2000).

Com isso, os resultados indicaram que o aumento da disponibilidade de nitrogênio promove o acúmulo de proteínas até concentrações intermediárias de ureia, sendo observada estabilização desses parâmetros a partir de 50% de ureia, uma vez que não houve diferença significativa entre os tratamentos 50%, 75% e 100%. Esse comportamento sugere uma provável saturação metabólica da assimilação de nitrogênio, onde o aumento da concentração de nutrientes não resulta em maior incorporação em biomoléculas, padrão que também é relatado na literatura para diferentes espécies de microalgas (Illman; Scragg; Shales, 2000; Markou *et al.*, 2013).

5.3 EFEITO DO CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇAO E UREIA NAS CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO E pH

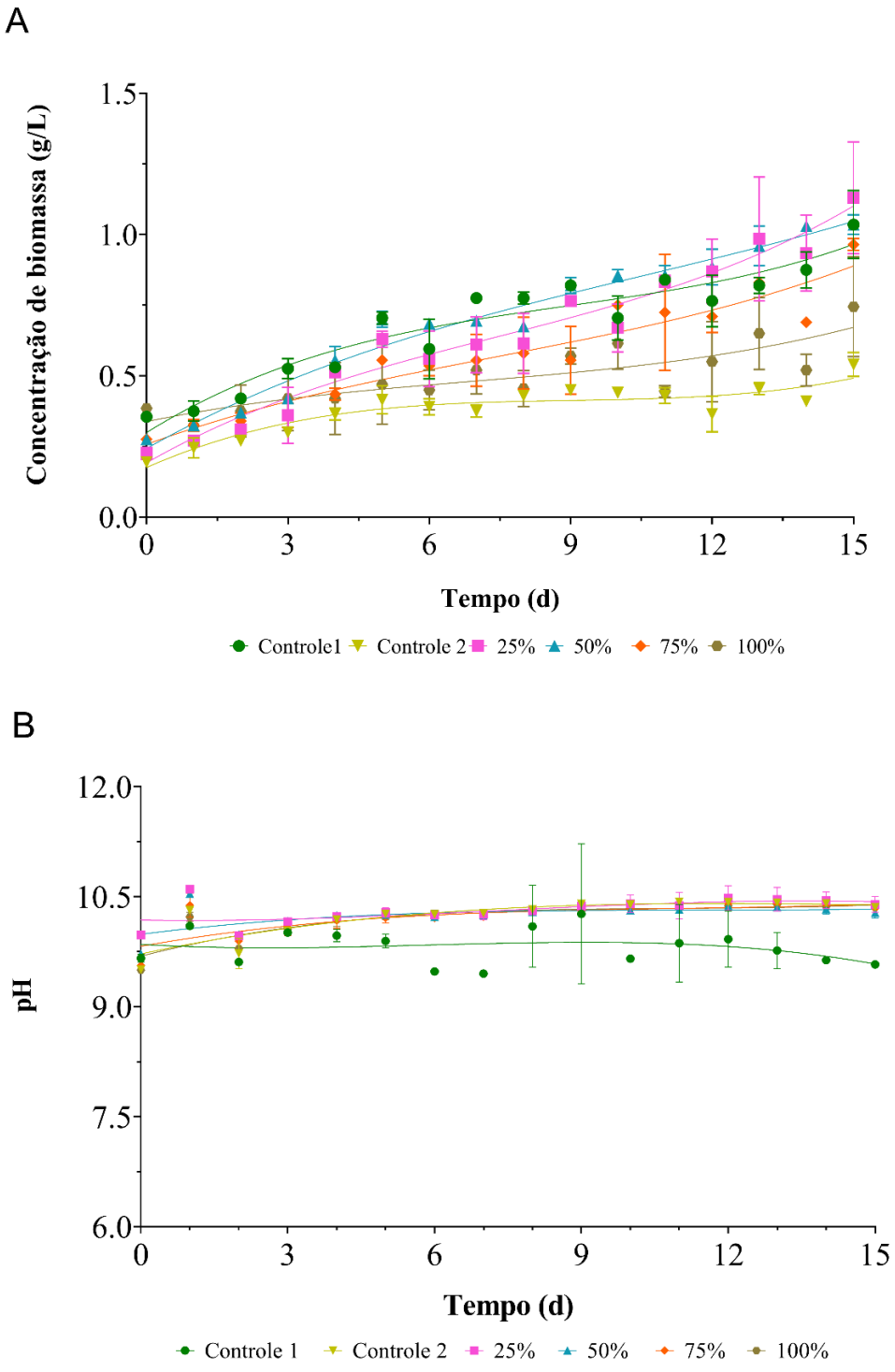
O perfil de concentração de biomassa de *C. fusca* LEB 111 sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização (25%, 50%, 75% e 100%) e 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}), além dos grupos controle 1 e 2, ao longo do cultivo, é apresentado na Figura 4. Observou-se que, desde os primeiros dias de cultivo, os tratamentos já apresentaram diferenças na concentração de biomassa, não sendo evidenciada uma fase inicial de adaptação celular. De modo geral, os cultivos com proporções intermediárias de concentrado (25% e 50%) apresentaram maiores valores de biomassa ao longo do tempo, enquanto as condições com maiores concentrações tenderam a apresentar crescimento mais limitado.

Ao longo do cultivo, os tratamentos passaram a apresentar diferenças no crescimento. O tratamento com 50% de concentrado de dessalinização apresentou maior incremento de biomassa em comparação aos demais tratamentos avaliados, atingindo os maiores valores ao final do experimento (≈1,0 g L^{-1}). Os tratamentos com 25% e 75% também apresentaram crescimento expressivo, com concentrações finais próximas às observadas para 50%, enquanto a condição com 100% de concentrado apresentou menor desempenho ao longo do cultivo (Figura 4).

O tratamento com 100% de concentrado de dessalinização apresentou menor crescimento da microalga em relação aos demais ensaios, com tendência de estabilização da crescimento em torno de 0,6 g L^{-1} nos dias finais de cultivo. Esse comportamento também foi observado, em menor intensidade, nas outras condições com maiores proporções de

concentrado, o que motivou a finalização do experimento aos 15 dias. De modo geral, os resultados indicaram que a substituição parcial de água doce por concentrado de dessalinização, especialmente até 50%, favoreceu o crescimento microalgal, com desempenho semelhante ao controle. 1 (BG-11 padrão). Por outro lado, maiores proporções de concentrado resultaram em menor acúmulo de biomassa, possivelmente associado ao aumento da salinidade e, consequentemente, à maior pressão osmótica do meio, que pode limitar o crescimento celular (Dan Su *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022).

Figura 4. (A) Concentração de biomassa (g L^{-1}) de *Chlorella fusca* LEB 111 ao longo do cultivo sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização + 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) e (B) variação do pH durante o cultivo. Ensaios com (●) Controle 1 (BG-11), (▼) Controle 2 (CD + microalga), (■) 25% de CD, (▲) 50% de CD, (◆) 75% CD e (⬟) 100% CD.



O pH do meio de cultivo permaneceu em faixa alcalina ao longo do experimento, apresentando valores semelhantes entre as condições avaliadas (Figura 4). Esse comportamento é consistente com estudos que indicaram que microalgas apresentam bom desempenho em faixas de pH alcalino, sem comprometimento do crescimento celular (Shyam Kumar,; Saramma, 2018). Além disso, o uso de concentrado de dessalinização como meio de cultivo tem sido reportado como viável para o crescimento de *Chlorella*, sendo comum a manutenção de condições alcalinas nesse tipo de matriz. Nesse sentido, Matos *et al.* (2015) observaram valores de pH naturalmente alcalinos, em torno de 8,0 - 9,0, durante o cultivo em concentrado de dessalinização, sem necessidade de correção do pH. Esses resultados reforçam que o concentrado de dessalinização tende a manter condições alcalinas favoráveis ao crescimento microalgal. Adicionalmente, estudos indicam que microalgas apresentam mecanismos fisiológicos que permitem adaptação a variações de pH, mantendo a atividade metabólica mesmo diante de alterações nas condições do meio (Meier *et al.*, 2022; R *et al.*, 2021).

Os valores de concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$) indicaram que as diferentes condições de cultivo influenciaram diretamente o crescimento de *C. fusca* LEB 111 (Tabela 4). Os maiores resultados foram observados nos tratamentos com 25% (1,2 ± 0,17 g L^{-1}) e 50% (1,1 ± 0,02 g L^{-1}), os quais não diferiram estatisticamente entre si. Além disso, esses valores foram semelhantes ao Controle 1 (1,04 ± 0,12 g L^{-1}), conduzido em meio BG-11 padrão, indicando que a substituição parcial (até 50%) de água doce por concentrado de dessalinização (CD) não comprometeu o crescimento microalgal (Tabela 4). Esses resultados sugerem que proporções intermediárias de CD proporcionam condições mais favoráveis ao acúmulo de biomassa.

Por outro lado, o tratamento com 100% de concentrado apresentou a menor concentração máxima de biomassa (0,78 ± 0,13 g L^{-1}), sendo inferior aos valores observados nas condições de 25% (1,2 ± 0,17 g L^{-1}) e 50% (1,1 ± 0,02 g L^{-1}) (Tabela 4). Esse comportamento indica que o aumento da proporção de concentrado exerce efeito inibitório sobre o crescimento de *C. fusca* LEB 111. Resultado semelhante é descrito na literatura, onde concentrações elevadas de sais, por exemplo acima de 40 - 60 g L^{-1} de NaCl, levam à redução significativa do crescimento microalgal, associada a alterações fisiológicas decorrentes do estresse salino. No presente estudo, embora a salinidade total do concentrado não tenha sido determinada, sua composição iônica evidenciou elevadas concentrações de íons dissolvidos, especialmente Na^+ (545,6 mmol L^{-1}), Ca^{2+} (605,6 mmol L^{-1}), Mg^{2+} (95,6 mmol L^{-1}) e HCO_3^-

(364,8 mmol L^{-1}) (Tabela 1), o que pode ter intensificado a pressão osmótica do meio e contribuído para a redução do crescimento celular observada no tratamento contendo 100% de concentrado. Esse estresse envolve efeitos osmóticos, iônicos e oxidativos, que reduzem o potencial hídrico celular, promovem desequilíbrio na homeostase iônica e favorecem a formação de espécies reativas de oxigênio. Como consequência, há comprometimento de processos essenciais, como a fotossíntese e a assimilação de nutrientes, resultando na diminuição da produtividade da biomassa (Elloumi *et al.*, 2020).

O Controle 1 (1,04 ± 0,12 g L^{-1}), cultivado em meio padrão, apresentou desempenho semelhante aos tratamentos intermediários, confirmando que essas condições foram adequadas ao crescimento. Contudo, o Controle 2 (0,54 ± 0,04 g L^{-1}), composto apenas por microalga e concentrado salino, apresentou o menor valor de biomassa (Tabela 4). Esse resultado indica que na ausência de nutrientes essenciais ao meio de cultivo, o concentrado isoladamente não é suficiente para sustentar o crescimento celular, mesmo na presença de sais, uma vez que microalgas requerem fontes adequadas de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes para o crescimento e divisão celular (Becker, 2007; Markou; Nerantzis, 2013).

Assim como observado para a concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$), a produtividade máxima ($P_{máx}$) também foi influenciada pelas condições de cultivo. Os maiores valores de produtividade foram observados nos tratamentos com 50% e 25% de concentrado de dessalinização, que não diferiram estatisticamente entre si, indicando melhor desempenho nessas condições. Os tratamentos Controle 1 e 75% apresentaram valores intermediários, enquanto a condição com 100% de concentrado resultou na menor produtividade (Tabela 5).

Os tratamentos com 25% e 50% de concentrado de dessalinização apresentaram valores de produtividade semelhantes, não diferindo estatisticamente entre si ($p > 0,05$), indicando desempenho equivalente nessas condições de cultivo. Por outro lado, a condição com 100% de concentrado resultou na menor produtividade, diferindo significativamente dos tratamentos com melhor desempenho ($p \leq 0,05$), o que sugere efeito negativo do aumento da proporção de concentrado sobre a eficiência do cultivo (Tabela 5). Esse comportamento pode estar relacionado ao aumento da salinidade e à alteração da disponibilidade de nutrientes no meio, fatores frequentemente associados à redução do crescimento microalgal em condições mais extremas. Estudos com espécies do gênero *Chlorella* relatam que condições moderadas de salinidade tendem a favorecer o crescimento, enquanto concentrações mais elevadas podem

resultar em redução da produtividade e limitação fisiológica celular (Balasubramaniyan; Kasiraman; Amirtham, 2024; Esteves *et al.*, 2025; Rosa, Adrián Macías-de la *et al.*, 2024).

Tabela 5. Concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$), Produtividade máxima de biomassa ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e tempo de geração (t_g) nos tratamentos com ureia durante os 15 dias de cultivo.

Parâmetro	Controle 1	Controle 2	25%	50%	75%	100%
$X_{máx}$ (g L^{-1})	$1,0^{a} \pm 0,12$	$0,54^{b} \pm 0,04$	$1,2^{a} \pm 0,17$	$1,1^{a} \pm 0,02$	$0,97^{a} \pm 0,02$	$0,78^{ab} \pm 0,13$
$P_{máx}$ (mg L^{-1} d^{-1})	$69,9^{ab} \pm 6,07$	$52,7^{ab} \pm 18,78$	$80,4^{a} \pm 9,56$	$84,9^{a} \pm 7,24$	$60,1^{ab} \pm 4,62$	$33,4^{b} \pm 5,39$
$\mu_{máx}$ (d^{-1})	$0,19^{a} \pm 0,05$	$0,14^{a} \pm 0,02$	$0,31^{a} \pm 0,09$	$0,21^{a} \pm 0,01$	$0,20^{a} \pm 0,08$	$0,12^{a} \pm 0,02$
t_g (d)	$3,8^{a} \pm 0,97$	$4,9^{a} \pm 0,69$	$2,4^{a} \pm 0,76$	$3,2^{a} \pm 0,17$	$3,7^{a} \pm 1,41$	$5,7^{a} \pm 0,88$

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Os valores de velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$), indicando que as diferentes condições de cultivo não afetaram de forma relevante a cinética de crescimento de *C. fusca* LEB 111. Embora tenham sido observadas pequenas variações nos valores, essas diferenças não foram estatisticamente significativas (Tabela 5).

Os valores de tempo de geração (tg) não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$), indicando que as condições de cultivo não influenciaram o tempo de duplicação celular. Embora tenham sido observadas pequenas variações entre os tratamentos,

essas não foram estatisticamente significativas, indicando comportamento semelhante do microrganismo quanto à taxa de divisão celular (Tabela 4).

Os tratamentos com diferentes concentrações, assim como o Controle 2, apresentaram comportamento semelhante, indicando que as condições avaliadas não provocaram alterações expressivas no pH. De modo geral, os resultados mostram que o pH permaneceu relativamente estável ao longo do cultivo, independentemente das concentrações de ureia ou de concentrado de dessalinização utilizadas. Entretanto, pequenas oscilações observadas no Controle 2 podem estar relacionadas à ausência de suplementação nutricional no meio contendo apenas concentrado de dessalinização, condição que possivelmente limitou a atividade metabólica e fotossintética das células ao longo do cultivo. Em microalgas, variações na assimilação de carbono inorgânico e na atividade fotossintética influenciam diretamente a dinâmica do pH, uma vez que o consumo CO_2 dissolvido tende a elevar os valores de pH, enquanto alterações na atividade celular podem resultar em pequenas flutuações no meio de cultivo.

De maneira geral, os resultados obtidos neste estudo sugerem que o concentrado de dessalinização pode ser empregado no cultivo microalgal em proporções de até 50%, uma vez que nessas condições foram observados maiores valores de crescimento e produtividade. Em contrapartida, proporções superiores a 50%, especialmente a condição com 100% de concentrado, estiveram associadas à redução do desempenho do cultivo nas condições avaliadas. Resultados semelhantes têm sido reportados para microalgas cultivadas em meios com elevada salinidade ou concentrados salinos, nos quais o aumento da concentração de sais pode influenciar negativamente o crescimento celular e a produtividade da biomassa, embora esse efeito dependa da espécie e das condições de cultivo (Al Bazedi *et al.*, 2023; Mohseni; Fan; Roddick, 2021).

No início do cultivo, não foram observadas diferenças significativas na eficiência fotoquímica máxima do PSII (Fv/Fm) entre os tratamentos, indicando que a presença do concentrado de dessalinização não provocou impacto imediato na atividade fotossintética das células. No entanto, ao final do cultivo, observou-se redução dos valores de Fv/Fm no Controle 2, sugerindo que, ao longo do tempo, as condições do meio contendo apenas concentrado não foram suficientes para manter o desempenho fotossintético no mesmo nível dos demais tratamentos (Tabela 6). Esse comportamento indica que a resposta fotossintética às condições do meio pode ocorrer de forma progressiva, e não imediata.

Tabela 6. Resultados do início (0 d) e fim (15 d) de eficiência fotossintética (Fv/Fm) de *C. fusca* Leb 111 cultivada sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização no meio de cultivo. Controle 1: meio BG-11 padrão; Controle 2: meio contendo apenas concentrado de dessalinização, sem adição de nutrientes.

Parâmetro	Dia	Controle 1	Controle 2	25%	50%	75%	100%
Fv/Fm	0	$0,74^{a} \pm 0,01$	$0,75^{a} \pm 0,00$	$0,75^{a} \pm 0,00$	$0,75^{a} \pm 0,00$	$0,75^{a} \pm 0,01$	$0,73^{a} \pm 0,00$
	15	$0,72^{a} \pm 0,01$	$0,66^{b} \pm 0,02$	$0,74^{a} \pm 0,04$	$0,71^{a} \pm 0,01$	$0,75^{a} \pm 0,01$	$0,74^{a} \pm 0,00$

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

Resultados semelhantes foram relatados por Kholssi; Lougraimzi; Moreno-Garrido (2023), que observaram que aumentos de salinidade e temperatura podem reduzir significativamente o Fv/Fm em microalgas, refletindo alterações no funcionamento do fotossistema II e na capacidade de transferência de elétrons. Esses autores associaram a redução do Fv/Fm a alterações fisiológicas decorrentes do estresse ambiental, como ajustes no aparato fotossintético e mudanças na distribuição de energia entre os fotossistemas. Dessa forma, a variação observada no presente estudo é consistente com a literatura, reforçando que alterações nas características do meio de cultivo, como as impostas pelo concentrado de dessalinização, podem influenciar a eficiência fotossintética ao longo do tempo

5.4 EFEITO DO CONCENTRADO DE DESSALINIZAÇÃO + 50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) NA COMPOSIÇÃO D BIOMASSA

A composição centesimal da biomassa de *C. fusca* LEB 111 foi influenciada pelas condições de cultivo avaliadas, com teores de proteínas variando de 24,26% a 50,15% (Tabela 7). Essa variação indica que a disponibilidade de nutrientes e a salinidade do meio influenciaram diretamente a síntese proteica, uma vez que o nitrogênio exerce papel fundamental no metabolismo microalgal. Estudos demonstram que a disponibilidade de nitrogênio influencia diretamente o crescimento e a composição bioquímica das microalgas, sendo essencial para a síntese de proteínas, pigmentos fotossintéticos, aminoácidos e outras biomoléculas nitrogenadas (Assobhi *et al.*, 2024; Liu, Tan *et al.*, 2022; Maltsev; Kulikovskiy;

Maltseva, 2023). Em condições de limitação nitrogenada, observa-se frequentemente redução do teor proteico associada ao redirecionamento do metabolismo celular para o acúmulo de compostos de reserva, como lipídios e carboidratos.

Além disso, o aumento da salinidade, especialmente em condições superiores a 2,5 - 3% (≈25 - 30 g L^{-1} de sais), pode comprometer a assimilação de nitrogênio pelas microalgas, reduzindo a atividade metabólica e enzimática e, consequentemente, a síntese de proteínas. Esse efeito está associado a alterações fisiológicas e danos ao sistema fotossintético sob estresse salino, incluindo redução da atividade do fotossistema II (PSII) e da atividade de enzimas relacionadas ao metabolismo do nitrogênio (Hao *et al.*, 2025).

Em condições de estresse, como elevadas concentrações de sais, especialmente NaCl em níveis superiores a 45 - 60‰ (≈45 - 60 g L^{-1}), também pode ocorrer redirecionamento metabólico, no qual a célula passa a acumular compostos de reserva, como carboidratos, em detrimento de proteínas, como mecanismo de adaptação às condições adversas. Em *Euchlorocystis marina*, (Pan *et al.*, 2024) observaram maior acúmulo de polissacarídeos sob elevadas salinidades, indicando ajuste osmótico e redistribuição metabólica em resposta ao estresse salino. Matos *et al*. (2015) observaram teores proteicos entre 45,2% e 48,8% em *Chlorella sp*. cultivada em concentrado de dessalinização, sem variações ao longo dos ciclos de cultivo. Em contraste, os resultados do presente estudo apresentaram maior amplitude, incluindo valores inferiores aos reportados na literatura, indicando maior sensibilidade da biomassa às condições avaliadas (Tabela 7).

Tabela 7. Composição bioquímica da biomassa microalgal cultivada sob diferentes proporções de concentrado de dessalinização no meio de cultivo + **50% de ureia (0,2648 g L^{-1})**. Controle 1: meio BG-11 padrão; Controle 2: meio contendo apenas concentrado de dessalinização, sem adição de nutrientes.

Parâmetros	Controle 1	Controle 2	25%	50%	75%	100%
Lipídios	$14,1^{a}$	$15,2^{a}$ ±	$14,3^{a}$ ±	$12,5^{a}$ ±	$15,6^{a}$ ±	$15,1^{a}$ ±
(% m m^{-1})	±1,43	3,73	1,69	2,65	0,60	1,70
Carboidratos	$29,0^{a}$ ±	$30,2^{a}$ ±	$27,6^{a}$ ±	$31,2^{a}$ ±	$20,8^{b}$ ±	$25,3^{ab}$ ±
(% m m^{-1})	1,93	1,99	3,13	2,33	2,77	2,25
Proteínas	$48,4^{a}$ ±	$24,3^{b}$ ±	$47,7^{a}$ ±	$46,1^{a}$ ±	$47,9^{a}$ ±	$50,2^{a}$ ±
(% m m^{-1})	4,09	2,94	4,07	2,30	4,13	3,27

Os resultados estão expressos como média ± desvio padrão. Letras sobrescritas iguais na mesma linha indicam que não há diferença estatisticamente significativa entre as médias, ao nível de 95% de confiança ($p > 0,05$).

A substituição parcial da água doce por concentrado de dessalinização, especialmente nas proporções de 25% e 50%, permitiu manter a qualidade nutricional da biomassa, uma vez que os teores de proteínas foram comparáveis aos do meio controle 1 (Tabela 6). Esse resultado demonstra que a utilização do concentrado de dessalinização pode representar uma alternativa tecnicamente viável e ambientalmente vantajosa, contribuindo para a redução do consumo de água doce e de insumos químicos no cultivo, sem comprometer a qualidade da biomassa produzida.

Os carboidratos apresentaram variação entre 20,81% e 31,22%, com maior acúmulo no tratamento contendo 50% de concentrado de dessalinização e redução nas maiores proporções, sendo observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos (Tabela 6). Esse comportamento pode estar relacionado à resposta metabólica da microalga às condições do meio de cultivo, uma vez que alterações moderadas nas condições ambientais podem favorecer o acúmulo de compostos de reserva, enquanto condições mais severas de salinidade tendem a comprometer processos metabólicos associados ao crescimento e à assimilação de carbono. Em microalgas do gênero *Chlorella*, o estresse salino pode modificar o direcionamento metabólico do carbono assimilado, afetando a síntese e o acúmulo de biomoléculas, incluindo carboidratos, sendo a resposta dependente da intensidade do estresse e da capacidade adaptativa da espécie (Ru *et al.*, 2020; Teh *et al.*, 2021). Adicionalmente, esse comportamento sugere influência das condições do meio sobre o metabolismo de acúmulo de carboidratos, uma vez que alterações na composição do meio de cultivo podem modificar o direcionamento metabólico celular e a composição bioquímica da biomassa. De forma complementar, (Mata *et al.*, 2020) observaram aumento no teor de carboidratos em *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em concentrado de dessalinização, de 47,91% no controle para 52,29% na condição contendo o concentrado, evidenciando que modificações no meio de cultivo podem influenciar o acúmulo dessa biomolécula, embora a resposta dependa da espécie e das condições de cultivo.

Os resultados obtidos sugerem que a composição bioquímica da biomassa foi influenciada tanto pela utilização da ureia como fonte de nitrogênio quanto pelas condições impostas pelo concentrado de dessalinização no meio de cultivo. A disponibilidade de nitrogênio pode influenciar diretamente a síntese proteica, uma vez que esse nutriente participa da formação de aminoácidos, proteínas e outras biomoléculas celulares, sendo a fonte nitrogenada capaz de afetar a fisiologia e a composição bioquímica das microalgas (Becker, 2007; Vasileva; Ivanova; Gigova, 2020). Além disso, alterações na salinidade do meio podem

influenciar o metabolismo microalgal e o acúmulo de biomoléculas, uma vez que condições de estresse salino podem promover mudanças no direcionamento do carbono assimilado, afetando o balanço entre proteínas, carboidratos e lipídios (Shi *et al.*, 2020; Teh *et al.*, 2021). Dessa forma, a ausência de um padrão linear na composição bioquímica da biomassa observada neste estudo sugere que a resposta metabólica da microalga depende das condições impostas pelo meio de cultivo e da intensidade do estresse ao qual as células foram submetidas.

6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a utilização de ureia (50% de ureia (0,2648 g L^{-1}) como fonte alternativa de nitrogênio aliada ao uso de concentrado de dessalinização como meio de cultivo, constitui uma estratégia viável para o cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111, com potencial para redução de custos e reaproveitamento de efluentes. A condição com 50% de ureia apresentou melhor desempenho cinético, com concentração máxima de biomassa de 1,7 g L^{-1} e produtividade máxima de 90,5 mg L^{-1} d^{-1}, indicando um ponto ótimo de fornecimento de nitrogênio. Nos ensaios com concentrado de dessalinização, as proporções de 25% e 50% favoreceram o crescimento celular, atingindo até 1,15 g L^{-1} de biomassa, enquanto a condição com 100% apresentou menor desempenho (0,78 g L^{-1}).

Além disso, a composição bioquímica da biomassa foi influenciada pelas condições de cultivo, com variação nos teores de proteínas (24,26% a 50,15%) e carboidratos (20,27% a 36,02%), evidenciando a possibilidade de direcionamento metabólico. Nesse contexto, destaca-se que o ajuste das concentrações de ureia e da diluição do concentrado é um fator crítico para otimização do sistema. Como perspectiva de melhoria, recomenda-se estratégias de cultivo que minimizem o acúmulo de compostos inibitórios, como sistemas semicontínuos ou com renovação de meio.

Dessa forma, o uso combinado de ureia e concentrado de dessalinização contribui para a redução de custos operacionais e para o desenvolvimento de processos mais sustentáveis, com potencial aplicação na produção de biocombustíveis e outros bioprodutos. Essa abordagem se destaca por integrar a valorização de resíduos ao processo produtivo, contribuindo para melhor gerenciamento do concentrado de dessalinização e para a preservação de água doce, recurso cada vez mais escasso.

7 REFERÊNCIAS

AL BAZEDI, G.; ISMAIL, M. M.; MUGWANYA, M.; SEWILAM, H. Desalination concentrate microalgae cultivation: biomass production and applications. **Sustainable Water Resources Management**, *[S.l.]*, v. 9, n. 4, p. 108, 16 jun. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s40899-023-00887-2.

ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, A.; GREQUE DE MORAIS, E.; PLANAS-CARBONELL, A.; UGGETTI, E. Enhancing sustainability through microalgae cultivation in urban wastewater for biostimulant production and nutrient recovery. **The Science of the Total Environment**, *[S.l.]*, v. 904, p. 166878, 15 dez. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166878.

ANSARI, F. A.; HASSAN, H.; GANI, K. M.; RAWAT, I.; GUPTA, S. K.; BUX, F. Influence of nitrogen sources on growth and biochemical composition of *Chlorella sorokiniana*. **Biomass and Bioenergy**, *[S.l.]*, v. 197, p. 107832, 1 jun. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2025.107832.

ASSOBHI, B.; ENNASRY, H.; LATIQUE, S.; KARA, M.; ALAOUI MHAMDI, M.; BAHHOU, J. Influence of salinity, nitrogen and phosphorus concentrations on the physiological and biochemical characteristics of two Chlorophyceae isolated from Fez freshwater, Morocco. **Scientific Reports**, *[S.l.]*, v. 14, n. 1, p. 8259, 9 abr. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-024-58864-4.

BAILEY, J. E.; OLLIS. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2 ed. [*S.l.*]: Singapore: McGraw-Hill, 1986.

BALASUBRAMANIYAN, M.; KASIRAMAN, D.; AMIRTHAM, S. Chlorella vulgaris in biodesalination: a sustainable future from seawater to freshwater. **Marine Development**, *[S.l.]*, v. 2, n. 1, p. 7, 21 mar. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s44312-024-00019-0.

BĂNĂDUC, D.; SIMIĆ, V.; CIANFAGLIONE, K.; BARINOVA, S.; AFANASYEV, S.; ÖKTENER, A.; MCCALL, G.; SIMIĆ, S.; CURTEAN-BĂNĂDUC, A. Freshwater as a Sustainable Resource and Generator of Secondary Resources in the 21st Century: Stressors, Threats, Risks, Management and Protection Strategies, and Conservation Approaches. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, *[S.l.]*, v. 19, n. 24, p. 16570, jan. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijerph192416570.

BARROS DE MEDEIROS, V. P; DA COSTA, W. K. A.; DA SILVA, R. T.; PIMENTEL, T. C.; MAGNANI, M. Microalgae as source of functional ingredients in new-generation foods: challenges, technological effects, biological activity, and regulatory issues. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, *[S.l.]*, v. 62, n. 18, p. 4929–4950, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1879729.

BAUER, L. M.; COSTA, J. A. V.; DA ROSA, A. P. C.; SANTOS, L. O. Growth stimulation and synthesis of lipids, pigments and antioxidants with magnetic fields in Chlorella kessleri cultivations. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 244, n. Pt 2, p. 1425–1432, nov. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.036.

BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, *[S.l.]*, v. 25, n. 2, p. 207–210, 1 mar. 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002.

BEZERRA, Priscilla Quênia Muniz.; MORAES, Luiza.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation in seawater and reduced nutrients: Bioprocess strategy for increasing carbohydrates in biomass. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 316, p. 123883, 1 nov. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123883.

BEZERRA, P. Q. M.; MORAES, L.; SILVA, T. N. M.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. Innovative application of brackish groundwater without the addition of nutrients in the cultivation of *Spirulina* and *Chlorella* for carbohydrate and lipid production. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 345, p. 126543, 1 fev. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126543.

BEZERRA, P. Q. M.; MORAES, L.; SILVA, T. N. M.; CARDOSO, L. G.; DRUZIAN, J. I.; MORAIS, M. G.; NUNES, I. L.; COSTA, J. A. V. Strategy for Carbohydrate-Starch Production Enhancement by Chlorella fusca Using Seawater as Culture Medium. **BioEnergy Research**, *[S.l.]*, v. 16, n. 4, p. 2502–2511, 1 dez. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12155-023-10566-x.

BHARATHIRAJA, B.; CHAKRAVARTHY, M.; RANJITH KUMAR, R.; YOGENDRAN, D.; YUVARAJ, D.; JAYAMUTHUNAGAI, J.; PRAVEEN KUMAR, R.; PALANI, S. Aquatic biomass (algae) as a future feed stock for bio-refineries: A review on cultivation, processing and products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, *[S.l.]*, v. 47, p. 634–653, 1 jul. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.03.047.

BHATT, A.; KHANCHANDANI, M.; RANA, M. S.; PRAJAPATI, S. K. Techno-economic analysis of microalgae cultivation for commercial sustainability: A state-of-the-art review. **Journal of Cleaner Production**, *[S.l.]*, v. 370, p. 133456, 10 out. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133456.

BRAGA, V. S.; MOREIRA, J. B.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Potential of Chlorella fusca LEB 111 cultivated with thermoelectric fly ashes, carbon dioxide and reduced supply of nitrogen to produce macromolecules. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 277, p. 55–61, abr. 2019a. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.035.

CARLETTI, M.; BARBERA, E.; FILIPPINI, F.; SFORZA, E. Effect of ammonium/nitrate ratio on microalgae continuous cultures: Species-specificity of nutrient uptake and modelling perspectives. **Journal of Water Process Engineering**, *[S.l.]*, v. 58, p. 104762, 1 fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104762.

CASPI, R.; BILLINGTON, R.; FERRER, L.; FOERSTER, H.; FULCHER, C. A.; KESELER, I. M.; KOTHARI, A.; KRUMMENACKER, M.; LATENDRESSE, M.; MUELLER, L. A.; ONG, Q.; PALEY, S.; SUBHRAVETI, P.; WEAVER, D.S.; KARP, P. D. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. **Nucleic Acids Research**, *[S.l.]*, v. 44, n. D1, p. D471–D480, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1093/nar/gkv1164.

CASSURIAGA, A. P. A.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Use of exogenous substrate in Chlorella cultivation: Strategy for biomass and polyhydroxybutyrate production. **International Journal of Biological Macromolecules**, *[S.l.]*, v. 231, p. 123193, 15 mar. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123193.

CHOJNACKA, K.; KIM, S.K. Introduction of Marine Algae Extracts. *In*: Marine Algae Extracts. *[S.l.]*: John Wiley & Sons, Ltd, 2015. Seção 1, p. 1–14. DOI: https://doi.org/10.1002/9783527679577.ch1. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527679577.ch1. Acesso em: 23 jan. 2026.

CHOOCHOTE, W.; PAIBOONSIN, K.; RUANGPAN, S.; PHARUANG, A. Effects of Urea and Light Intensity on the Growth of Chlorella sp. *In*: THE 8TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOCONTROL AND BIOTECHNOLOGY. 2010. *[S.l.]*: Citeseer, 2010. p. 127–134.

CHUNZHUK, E. A.; GRIGORENKO, A. V.; KISELEVA, S. V.; CHERNOVA, N. I.; VLASKIN, M. S.; RYNDIN, K. G.; BUTYRIN, A. V.; AMBARYAN, G. N.; DUDOLADOV, A. O. Effects of Light Intensity on the Growth and Biochemical Composition in Various Microalgae Grown at High CO2 Concentrations. **Plants**, *[S.l.]*, v. 12, n. 22, p. 3876, jan. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/plants12223876.

CONVERTI, A.; CASAZZA, A. A.; ORTIZ, E. Y.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, *[S.l.]*, v. 48, n. 6, p. 1146–1151, 1 jun. 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006.

COSTA, J. A. V; FREITAS, B. C. B.; ROSA, G. M.; MORAES, L.; MORAIS, M. G.; MITCHELL, B. G. Operational and economic aspects of *Spirulina*-based biorefinery. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 292, p. 121946, 1 nov. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121946.

COSTA, S. S.; MIRANDA, A. L.; ANDRADE, B. B.; ASSIS, D. J.; SOUZA, C. O.; DE MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; DRUZIAN, J. I**.** Influence of nitrogen on growth, biomass composition, production, and properties of polyhydroxyalkanoates (PHAs) by microalgae. ***International Journal of Biological Macromolecules*****,** *[S.l.]*, v. 116, p. 552–562, 1 set. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.064.

CRUZ, Y. R.; DÍAZ, G. C.; LEONETT, A. Z. F.; CARLIZ, R. G.; ROSSA, V.; OLIVEIRA, L. B.; PAIXÃO, M. N.; ARANDA, D. A. G. Photobioreactor of Microalgas for CO2 Biofixation. **Journal of Power and Energy Engineering**, *[S.l.]*, v. 7, n. 1, p. 91–106, 25 jan. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.4236/jpee.2019.71006.

DAN, S.; LI, X.; LIU, S.; BU, Y. Research Progress on The Effects of Salt Stress on Photosynthesis and Lipids of Microalgae. Molecular Soil Biology, *[S.l.]*, v. 13, 11 mar. 2022. Disponível em: https://bioscipublisher.com/index.php/msb/article/view/3737. Acesso em: 30 maio 2026.

DANESI, E.D.G.; RANGEL-YAGUI, C.D.O.; DE CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by Spirulina platensis. **Biomass and Bioenergy**, *[S.l.]*, v. 23, n. 4, p. 261–269, 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00054-5.

DE MORAIS, M. G.; VAZ, B. S.; DE MORAIS, E. G.; COSTA, J. A. V. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. **BioMed Research International**, *[S.l.]*, v. 2015, n. 1, p. 835761, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2015/835761.

DE SOUZA CELENTE, G.; DE CASSIA DE SOUZA SCHNEIDER, R.; MEDIANEIRA RIZZETTI, T.; LOBO, E. A.; SUI, Y. Using wastewater as a cultivation alternative for microalga *Dunaliella salina*: Potentials and challenges. **The Science of the Total Environment**, *[S.l.]*, v. 911, p. 168812, 10 fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168812

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, *[S.l.]*, v. 36, p. 1959–1967, dez. 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050..

DHAL, N. K.; SAHU, S. C. *Plant Science*. *[S.l.]*: BoD – Books on Demand, 17 set. 2012. 330 p.

DIAS, R. R.; DEPRÁ, M. C.; MENEZES, C. R.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. Microalgae Cultivation in Wastewater: How Realistic Is This Approach for Value-Added Product Production? **Processes**, *[S.l.]*, v. 13, n. 7, 27 jun. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/pr13072052.

DO, J.-M.; JO, S.-W.; YEO, H.-T.; SHIN, D. H.; OH, H.; HONG, J. W.; YOON, H.-S. Biological treatment of reverse osmosis concentrate by microalgae cultivation and utilization of the resulting algal biomass. **Journal of Water Process Engineering**, *[S.l.]*, v. 42, p. 102157, 1 ago. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102157.

DU, Z.; HU, B.; SHI, A.; MA, X.; CHENG, Y.; CHEN, P.; LIU, Y.; LIN, X.; RUAN, R. Cultivation of a microalga *Chlorella vulgaris* using recycled aqueous phase nutrients from hydrothermal carbonization process. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 126, p. 354–357, 1 dez. 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.062.

DUARTE, J. H.; CARDOSO, L. G.; DE SOUZA, C. O.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I.; DE MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Brackish Groundwater from Brazilian Backlands in *Spirulina* Cultures: Potential of Carbohydrate and Polyunsaturated Fatty Acid Production. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, *[S.l.]*, v. 190, n. 3, p. 907–917, mar. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12010-019-03126-7.

DUARTE, J. H.; DE MORAIS, E. G.; RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. Biological CO2 mitigation from coal power plant by *Chlorella fusca* and *Spirulina* sp. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 234, p. 472–475, 1 jun. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.066.

DUARTE, J. H.; FANKA, L. S.; COSTA, J. A. V. Utilization of simulated flue gas containing CO2, SO2, NO and ash for *Chlorella fusca* cultivation. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 214, p. 159–165, 1 ago. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.078.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, *[S.l.]*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1 mar. 1956. Disponível em: https://doi.org/10.1021/ac60111a017.

ELLOUMI, W.; JEBALI, A.; MAALEJ, A.; CHAMKHA, M.; SAYADI, S. Effect of Mild Salinity Stress on the Growth, Fatty Acid and Carotenoid Compositions, and Biological Activities of the Thermal Freshwater Microalgae *Scenedesmus* sp. **Biomolecules**, *[S.l.]*, v. 10, n. 11, 5 nov. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/biom10111515.

ESTEVES, A. F.; GONÇALVES, A. L.; VILAR, V. J. P.; PIRES, J. C. M. Exploring salinity-induced biochemical changes in *Chlorella vulgaris* using statistical modelling. **Scientific Reports**, *[S.l.]*, v. 15, n. 1, p. 36521, 21 out. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-025-11110-x.

EZHUMALAI, G.; ARUN, M.; MANAVALAN, A.; RAJKUMAR, R.; HEESE, K. A Holistic Approach to Circular Bioeconomy Through the Sustainable Utilization of Microalgal Biomass for Biofuel and Other Value-Added Products. **Microbial Ecology**, *[S.l.]*, v. 87, n. 1, p. 61, 25 abr. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00248-024-02376-1.

FAUCHER, Onil; COUPAL, Bernard; LEDUY, Anh. Utilization of sea water–urea as a culture medium for Spirulina maxima. **Canadian Journal of Microbiology**, *[S.l.]*, v. 25, n. 6, p. 752–759, jun. 1979. Disponível em: https://doi.org/10.1139/m79-109. FAUCHER, O.; COUPAL, B.; LEDUY, A. Utilization of sea water–urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. **Canadian Journal of Microbiology**, *[S.l.]*, v. 25, n. 6, p. 752–759, jun. 1979. Disponível em: https://doi.org/10.1139/m79-109.

GANESH SARATALE, R.; PONNUSAMY, V. K.; JEYAKUMAR, R. B.; SIROHI, R.; PIECHOTA, G.; SHOBANA, S.; DHARMARAJA, J.; LAY, C.-H.; DATTATRAYA SARATALE, G.; SEUNG SHIN, H.; ASHOKKUMAR, V. Microalgae cultivation strategies using cost–effective nutrient sources: Recent updates and progress towards biofuel production. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 361, p. 127691, 1 out. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127691.

GUIEYSSE, B.; PLOUVIEZ, M. Microalgae cultivation: closing the yield gap from laboratory to field scale. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, *[S.l.]*, v. 12, 14 fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1359755.

HAO, Y.; LU, S.; CHU, G.; GAO, M. Effect of salinity on nitrogen removal performance, enzymatic activity and metabolic pathway of *Chlorella pyrenoidosa* treating aquaculture wastewater. **Environmental Research**, *[S.l.]*, v. 265, p. 120405, 15 jan. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.120405.

HENRIKSON, R. **Microalga spirulina: superalimento del futuro: una notable alga azul que puede transformar su salud y nuestro planeta**. *[S.l.]*: Urano, 1994.

HSIEH, C.-H.; WU, W.-T. Cultivation of microalgae for oil production with a cultivation strategy of urea limitation. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 100, n. 17, p. 3921–3926, 1 set. 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.019.

HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JARVIS, E.; GHIRARDI, M.; POSEWITZ, M.; SEIBERT, M.; DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The Plant Journal**, *[S.l.]*, v. 54, n. 4, p. 621–639, 1 maio 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x.

ILLMAN, A. M; SCRAGG, A. H; SHALES, S. W. Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and Microbial Technology**, *[S.l.]*, v. 27, n. 8, p. 631–635, 1 nov. 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00266-0.

IPPOLITI, D.; GONZÁLEZ, A.; MARTÍN, I.; SEVILLA, J.M.F.; PISTOCCHI, R.; ACIÉN, F.G. Outdoor production of Tisochrysis lutea in pilot-scale tubular photobioreactors | Journal of Applied Phycology | Springer Nature Link. *[S.l.]*, v. 28, p. 3159–3166, 2016.

JE, S.; Y., Yasuyo. Biotechnological Approaches for Biomass and Lipid Production Using Microalgae Chlorella and Its Future Perspectives. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, *[S.l.]*, v. 32, n. 11, p. 1357–1372, 28 nov. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.4014/jmb.2209.09012.

JIANG, R.; QIN, L.; FENG, S.; HUANG, D.; WANG, Z.; ZHU, S. The joint effect of ammonium and pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and ammonium removal in artificial liquid digestate. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 325, p. 124690, 1 abr. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124690.

JIAO, Q.; HU, X. Recent Advances and Emerging Trends in Chlorophyll Fluorescence Parameter Fv/Fm. **Phyton-International Journal of Experimental Botany**, *[S.l.]*, v. 94, n. 9, p. 2615–2630, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.32604/phyton.2025.069246.

JUNG, J.-Y.; LEE, H.; SHIN, W.-S.; SUNG, M.-G.; KWON, J.-H.; YANG, J.-W. Utilization of seawater for cost-effective cultivation and harvesting of *Scenedesmus obliquus*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, *[S.l.]*, v. 38, n. 3, p. 449–455, 1 mar. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00449-014-1284-4.

KAUR, R; MAHAJAN, A; BHATIA, A. Effect of two different nitrogen sources on lipid accumulation in microalgae Chlorella pyrenoidosa. **Int. J. Trend Res. Dev**, *[S.l.]*, v. 4, p. 8–10, 2017.

KHALIGH, S. F.; ASOODEH, A. Recent advances in the bio-application of microalgae-derived biochemical metabolites and development trends of photobioreactor-based culture systems. **3 Biotech**, *[S.l.]*, v. 12, n. 10, p. 260, 4 set. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13205-022-03327-8.

KHALILI, A.; NAJAFPOUR, G. D.; AMINI, G.; SAMKHANIYANI, F. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, *[S.l.]*, v. 20, n. 2, p. 284–290, 2015.

KHOLSSI, R.; LOUGRAIMZI, H.; MORENO-GARRIDO, I. Influence of salinity and temperature on the growth, productivity, photosynthetic activity and intracellular ROS of two marine microalgae and cyanobacteria. **Marine Environmental Research**, *[S.l.]*, v. 186, p. 105932, 1 abr. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.105932.

LAFARGA, T.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G. *Spirulina* for the food and functional food industries. **Food Research International**, *[S.l.]*, v. 137, p. 109356, 1 nov. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356.

LEE, E.R. Basic characteristics of the algae. **Phycology**, *[S.l.]*, p. 11–21, 1989.

LI, J.; YIN, C.; WANG, H.; ZHAO, N. Mining Algorithm of Relatively Important Nodes Based on Edge Importance Greedy Strategy. *[S.l.]*, 2022. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-3417/12/12/6099?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 26 maio 2026.

LI, T.; XU, J.; GAO, B.; XIANG, W.; LI, A.; ZHANG, C. Morphology, growth, biochemical composition and photosynthetic performance of *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) under low and high nitrogen supplies. **Algal Research**, *[S.l.]*, v. 16, p. 481–491, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.008.

LIU, J.; HU, Q. *Chlorella: Industrial Production of Cell Mass and Chemicals*. In: **Handbook of Microalgal Culture**. *[S.l.]*: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. Seção 16, p. 327–338. Disponível em: https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch16.

LIU, T.; CHEN, Z.; XIAO, Y.; YUAN, M.; ZHOU, C.; LIU, G.; FANG, J.; YANG, B. Biochemical and Morphological Changes Triggered by Nitrogen Stress in the Oleaginous Microalga *Chlorella vulgaris*. **Microorganisms**, *[S.l.]*, v. 10, n. 3, p. 566, 5 mar. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/microorganisms10030566.

LIU, Z.-Y.; WANG, G.-C.; ZHOU, B.-C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 99, n. 11, p. 4717–4722, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.073.

LOURENÇO, S.O. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. **São Carlos: Ri Ma. 606p**, *[S.l.]*, 2006.

LOVIO-FRAGOSO, J. P.; DE JESÚS-CAMPOS, D.; LÓPEZ-ELÍAS, J. A.; MEDINA-JUÁREZ, L. A.; FIMBRES-OLIVARRÍA, D.; HAYANO-KANASHIRO, C. Biochemical and Molecular Aspects of Phosphorus Limitation in Diatoms and Their Relationship with Biomolecule Accumulation. **Biology**, *[S.l.]*, v. 10, n. 7, p. 565, 22 jun. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/biology10070565.

LOWRY, O.H; ROSEBROUGH, N.J; FARR, A.L; RANDALL, R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **J Biol Chem**, *[S.l.]*, v. 193(1): 265–75, 1951.

MAENG, S. K.; KHAN, W.; PARK, J.; HAN, I.; YANG, H.; SONG, K.-G.; CHOI, W.; KIM, S.; WOO, H.; KIM, H.-C. Treatment of highly saline RO concentrate using *Scenedesmus*

quadricauda for enhanced removal of refractory organic matter. **Desalination**, *[S.l.]*, v. 430, p. 128–135, 15 mar. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.12.056.

MALTSEV, Y.; KULIKOVSKIY, M.; MALTSEVA, S. Nitrogen and phosphorus stress as a tool to induce lipid production in microalgae. **Microbial Cell Factories**, *[S.l.]*, v. 22, n. 1, p. 239, 20 nov. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12934-023-02244-6.

MARGARITES, A.; COSTA, J. A. Increment of carbohydrate concentration of *Chlorella minutissima* microalgae for bioethanol production. **International Journal of Engineering Research and Applications**, *[S.l.]*, v. 4, p. 80–86, 1 nov. 2014.

MARKOU, G.; ANGELIDAKI, I.; NERANTZIS, E.; GEORGAKAKIS, D. Bioethanol Production by Carbohydrate-Enriched Biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. **Energies**, *[S.l.]*, v. 6, n. 8, p. 3937–3950, 5 ago. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.3390/en6083937.

MARKOU, G.; NERANTZIS, E. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology Advances**, *[S.l.]*, v. 31, n. 8, p. 1532–1542, 1 dez. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011.

MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. **Water Research**, *[S.l.]*, v. 65, p. 186–202, 15 nov. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.025.

MARSH, J. B.; WEINSTEIN, D. B. Simple charring method for determination of lipids. **Journal of Lipid Research**, *[S.l.]*, v. 7, n. 4, p. 574–576, jul. 1966. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)39274-9.

MARYJOSEPH, S.; KETHEESAN, B. Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, *[S.l.]*, v. 2, p. 100046, 1 set. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100046.

MATA, S. N.; DE SOUZA SANTOS, T.; CARDOSO, L. G.; ANDRADE, B. B.; DUARTE, J. H.; COSTA, J. A. V.; OLIVEIRA DE SOUZA, C.; DRUZIAN, J. I. *Spirulina* sp. LEB 18 cultivation in a raceway-type bioreactor using wastewater from desalination process: Production of carbohydrate-rich biomass. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 311, p. 123495, set. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123495.

MATOS, Â P.; FERREIRA, W. B.; MORIOKA, L. R. I.; MOECKE, E. H. S.; FRANÇA, K. B.; SANT'ANNA, E. S. CULTIVATION OF *Chlorella vulgaris* IN MEDIUM SUPPLEMENTED WITH DESALINATION CONCENTRATE GROWN IN A PILOT-SCALE OPEN RACEWAY. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, *[S.l.]*, v. 35, p. 1183–1192, 2018. Disponível em: https://doi.org/https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180354s20170338.

MATOS, Â. P.; MOECKE, E. H. S.; SANT'ANNA, E. S. The use of desalination concentrate as a potential substrate for microalgae cultivation in Brazil. **Algal Research**, *[S.l.]*, v. 24, p. 505–508, 1 jun. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.08.003.

MATOS, Â. P.; FERREIRA, W. B.; DE OLIVEIRA TORRES, R. C.; MORIOKA, L. R. I.; CANELLA, M. H. M.; ROTTA, J.; DA SILVA, T.; MOECKE, E. H. S.; SANT'ANNA, E. S. Optimization of biomass production of *Chlorella vulgaris* grown in desalination concentrate. **Journal of Applied Phycology**, *[S.l.]*, v. 27, n. 4, p. 1473–1483, 1 ago. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10811-014-0451-y.

MATOS, Â. P.; NOVELLI, E.; TRIBUZI, G. Use of algae as food ingredient: sensory acceptance and commercial products. **Frontiers in Food Science and Technology**, *[S.l.]*, v. 2, 16 set. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/frfst.2022.989801.

MATOS, A.P.; SALDANHA-CORRÊA, F.M.P; HURTADO, G.R; VADIVELOO, A.; MOHEIMANI, N. Influence of desalination concentrate medium on microalgal metabolism, biomass production and biochemical composition - Murdoch University. *[S.l.]*, [*S.d.*]. Disponível em: https://researchportal.murdoch.edu.au/esploro/outputs/journalArticle/Influence-of-desalination-concentrate-medium-on/991005619763607891?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 25 maio 2026.

MATSUDO, M. C.; BEZERRA, R. P.; SATO, S.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; CARVALHO, J. C. M. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using urea as nitrogen source. **Biochemical Engineering Journal**, *[S.l.]*, v. 43, n. 1, p. 52–57, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.08.009.

MEIER, L.; VILCHEZ, C.; CUARESMA, M.; TORRES-ARAVENA, A.; JEISON, D. Effect of pH change on the microalgae-based biogas upgrading process. **Applied Sciences**, *[S.l.]*, v. 12, n. 23, 28 nov. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/app122312194.

MERIDA, L.G.R; PADRÓN, R.A.R. Frontiers | Application of microalgae in wastewater: opportunity for sustainable development. *[S.l.]*, v. 11, n. Sec. Water and Wastewater Management, 12 dez. 2023. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/environmental-science/articles/10.3389/fenvs.2023.1238640/full?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 20 maio 2026.

MOHANTY, S. S.; MOHANTY, K. Valorization of *Chlorella thermophila* biomass cultivated in dairy wastewater for biopesticide production against bacterial rice blight: a circular biorefinery approach. **BMC Plant Biology**, *[S.l.]*, v. 23, n. 1, p. 644, 15 dez. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12870-023-04579-z.

MOHSENI, A.; FAN, L.; RODDICK, F. A. Impact of microalgae species and solution salinity on algal treatment of wastewater reverse osmosis concentrate. **Chemosphere**, *[S.l.]*, v. 285, p. 131487, dez. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131487.

MOLINA-MIRAS, A.; ABREU, A. C.; LÓPEZ ROSALES, L.; CERÓN-GARCÍA, M. C.; SÁNCHEZ-MIRÓN, A.; FERNÁNDEZ, I.; GARCÍA-CAMACHO, F. A step forward in sustainable pesticide production from *Amphidinium carterae* biomass via photobioreactor cultivation with urea as a nitrogen source. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 387, p. 129643, 1 nov. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129643.

MORAES, L.; ROSA, G. M. da; CARDIAS, B. B.; SANTOS, L. O. dos; COSTA, J. A. V. Microalgal biotechnology for greenhouse gas control: Carbon dioxide fixation by *Spirulina* sp. at different diffusers. **Ecological Engineering**, *[S.l.]*, v. 91, p. 426–431, 1 jun. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.035.

MORAIS, E.G; DUARTE, J.H. **Isolamento de microalgas para biofixação de CO2 proveniente de geração termelétrica.** Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande: [*S.n.*], 2012.

MORAIS, M.G. Fixação de dióxido de carbono e produção de ácidos graxos por microalgas. *[S.l.]*, 2006.

NGUYEN, H.T.T.; HO, G.T.K.; NGUYEN, H.T.; NGUYEN, S.M.; NGUYEN, S.T.T.; DUY, D.N.; NGUYEN, V.B. Water desalination of Chlorella vulgaris | The Journal of Agriculture and Development. *[S.l.]*, v. 22, 2023. Disponível em: https://jad.hcmuaf.edu.vn/index.php/jad/article/view/911?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 26 maio 2026.

NOVOVESKÁ, L.; NIELSEN, S. L.; EROLDOĞAN, O. T.; HAZNEDAROGLU, B. Z.; RINKEVICH, B.; FAZI, S.; ROBBENS, J.; VASQUEZ, M.; EINARSSON, H. Overview and challenges of large-scale cultivation of photosynthetic microalgae and cyanobacteria. **Marine Drugs**, *[S.l.]*, v. 21, n. 8, p. 445, ago. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/md21080445.

OSSA, C. L. de; GÓMEZ-VANEGAS, N. A.; PEÑUELA-VÁSQUEZ, M. Evaluación de la relación Carbono Nitrógeno y Carbono Fósforo para mejorar la producción de biomasa y ácidos grasos en *Chlorella sorokiniana*. **Hidrobiológica**, *[S.l.]*, v. 32, n. 1, 28 abr. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2022v32n1/Lugo.

OTAKI, R.; OISHI, Y.; ABE, S.; FUJIWARA, S.; SATO, N. Regulatory carbon metabolism underlying seawater-based promotion of triacylglycerol accumulation in *Chlorella kessleri*. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 289, p. 121686, out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121686.

PAN, Y.; AMENORFENYO, D. K.; DONG, M.; ZHANG, N.; HUANG, X.; LI, C.; LI, F. Effects of salinity on the growth, physiological and biochemical components of microalga *Euchlorocystis marina*. **Frontiers in Marine Science**, *[S.l.]*, v. 11, 10 maio 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1402071.

PINTON, R.; TOMASI, N.; ZANIN, L. Molecular and physiological interactions of urea and nitrate uptake in plants. **Plant Signaling & Behavior**, *[S.l.]*, v. 11, n. 1, p. e1076603, 2 jan. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1080/15592324.2015.1076603.

PRAVEENKUMAR, R.; SHAMEERA, K.; MAHALAKSHMI, G.; AKBARSHA, M. A.; THAJUDDIN, N. Influence of nutrient deprivations on lipid accumulation in a dominant indigenous microalga *Chlorella* sp., BUM11008: Evaluation for biodiesel production. **Biomass and Bioenergy**, *[S.l.]*, v. 37, p. 60–66, 1 fev. 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.12.035.

PROCHÁZKOVÁ, G.; BRÁNYIKOVÁ, I.; ZACHLEDER, V.; BRÁNYIK, T. Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae. **Journal of Applied Phycology**, *[S.l.]*, v. 26, n. 3, p. 1359–1377, 2014.

FILALI, R.; TIAN, H.; MICHEILS, E.; TAIDI, B. Evaluation of the growth performance of microalgae based on fine pH changes. **Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering**, *[S.l.]*, v. 8, n. 1, jun. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.26420/austinjbiotechnolbioeng.2021.1109.

RAMANNA, L.; GULDHE, A.; RAWAT, I.; BUX, F. The optimization of biomass and lipid yields of *Chlorella sorokiniana* when using wastewater supplemented with different nitrogen sources. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 168, p. 127–135, 1 set. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.064.

REICHERT, C. C.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium Spirulina platensis in a closed photobioreactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, *[S.l.]*, v. 23, p. 23–28, 2006. Disponível em: https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0104-66322006000100003.

RIBEIRO, D. M.; RONCARATTI, L. F.; POSSA, G. C.; GARCIA, L. C.; CANÇADO, L. J.; WILLIAMS, T. C. R.; DOS SANTOS ALVES FIGUEIREDO BRASIL, B. A low-cost approach for *Chlorella sorokiniana* production through combined use of urea, ammonia and nitrate based fertilizers. **Bioresource Technology Reports**, *[S.l.]*, v. 9, p. 100354, 1 fev. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100354.

RINCÓN, S. M.; BEYENAL, H.; ROMERO, H. M. A response surface methodology study for *Chlorella vulgaris* mixotrophic culture optimization. **Microorganisms**, *[S.l.]*, v. 12, n. 2, p. 379, 12 fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/microorganisms12020379.

RIPPKA, R.; WATERBURY, J.B. The synthesis of nitrogenase by non-heterocystous cyanobacteria. **FEMS Microbiology Letters**, *[S.l.]*, v. 2, n. 2, p. 83–86, 1 ago. 1977. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1977.tb00913.x.

ROSA, A. P. C. da; CARVALHO, L. F.; GOLDBECK, L.; COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by microalgae cultivated in open bioreactors. **Energy Conversion and Management**, *[S.l.]*, v. 52, n. 8, p. 3071–3073, 1 ago. 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.enconman.2011.01.008.

ROSA, G. M. da; MORAES, L.; CARDIAS, B. B.; SOUZA, M. da R. A. Z. de; COSTA, J. A. V. Chemical absorption and CO_2 biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 192, p. 321–327, 1 set. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.020.

ROSA, G. M. da; MORAES, L.; DE SOUZA, M. da R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* cultivation with a CO_2 absorbent: Influence on growth parameters and macromolecule production. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 200, p. 528–534, 1 jan. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.025.

ROSA, G. M. da; MORAIS, M. G. de; COSTA, J. A. V. Green alga cultivation with monoethanolamine: Evaluation of CO_2 fixation and macromolecule production. **Bioresource**

Technology, *[S.l.]*, v. 261, p. 206–212, 1 ago. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.007.

ROSA, G. M.; MORAIS, M. G.; COSTA, J. a. V. Fed-batch cultivation with CO2 and monoethanolamine: Influence on Chlorella fusca LEB 111 cultivation, carbon biofixation and biomolecules production. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 273, p. 627–633, fev. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.010.

ROSA, A. M.-de la; LÓPEZ-ROSALES, L.; CONTRERAS-GÓMEZ, A.; SÁNCHEZ-MIRÓN, A.; GARCÍA-CAMACHO, F.; CERÓN-GARCÍA, M. del C. Salinity as an abiotic stressor for eliciting bioactive compounds in marine microalgae. **Toxins**, *[S.l.]*, v. 16, n. 10, 30 set. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/toxins16100425.

RU, I. T. K.; SUNG, Y. Y.; JUSOH, M.; WAHID, M. E. A.; NAGAPPAN, T. *Chlorella vulgaris*: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. **Applied Phycology**, *[S.l.]*, v. 1, n. 1, p. 2–11, 4 dez. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256.

SAHLE-DEMESSIE, E.; ALY HASSAN, A.; EL BADAWY, A. Bio-desalination of brackish and seawater using halophytic algae. **Desalination**, *[S.l.]*, v. 465, p. 104–113, 1 set. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.05.002.

SALBITANI, G.; CARFAGNA, S. Ammonium utilization in microalgae: a sustainable method for wastewater treatment. **Sustainability**, *[S.l.]*, v. 13, n. 2, 18 jan. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/su13020956.

SCHMIDELL, W.; DE ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; SCHMIDELL, W.; BORZANI, W. **Biotecnologia industrial – vol. 3: processos fermentativos e enzimáticos**. *[S.l.]*: Editora Blucher, 2002.

SHARKH, B. A.; AL-AMOUDI, A. A.; FAROOQUE, M.; FELLOWS, C. M.; IHM, S.; LEE, S.; LI, S.; VOUTCHKOV, N. Seawater desalination concentrate—a new frontier for sustainable mining of valuable minerals. **npj Clean Water**, *[S.l.]*, v. 5, n. 1, p. 9, 25 mar. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41545-022-00153-6.

SHI, T.-Q.; WANG, L.-R.; ZHANG, Z.-X.; SUN, X.-M.; HUANG, H. Stresses as first-line tools for enhancing lipid and carotenoid production in microalgae. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, *[S.l.]*, v. 8, p. 610, 23 jul. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00610.

SHIRAZI, S. A.; RASTEGARY, J.; AGHAJANI, M.; GHASSEMI, A. Simultaneous biomass production and water desalination concentrate treatment by using microalgae. **Desalination and Water Treatment**, *[S.l.]*, v. 135, p. 101–107, 1 dez. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.5004/dwt.2018.23163.

SHYAM KUMAR, S.; SARAMMA, A.V. Effect of Salinity and pH Ranges on the Growth and Biochemical Composition of Marine Microalga- Nannochloropsis salina - ProQuest. *[S.l.]*, 2018. Disponível em: https://www.proquest.com/openview/024c8ea2b6ec25f8871ef6f986866069/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2032162. Acesso em: 13 abr. 2026.

SLINKSIENĖ, R.; SENDZIKIENE, E.; MIKOLAITIENE, A.; MAKAREVICIENE, V.; PALECKIENE, R.; RAGAUSKAITE, D. Use of microalgae biomass for production of granular nitrogen biofertilizers. **Green Chemistry Letters and Reviews**, *[S.l.]*, v. 15, n. 2, p. 416–426, 3 abr. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1080/17518253.2022.2071593.

SOLETTO, D.; BINAGHI, L.; LODI, A.; CARVALHO, J. C. M.; CONVERTI, A. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. **Aquaculture**, *[S.l.]*, v. 243, n. 1–4, p. 217–224, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.005.

SRIMONGKOL, P.; SONGSERM, P.; WATSUNTORN, W.; KARNCHANATAT, A.; SANGTANOO, P. Frontiers | Microalgae-based wastewater treatment for developing economic and environmental sustainability: Current status and future prospects. **Front. Bioeng. Biotechnol**, *[S.l.]*, 2022. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/bioengineering-and-biotechnology/articles/10.3389/fbioe.2022.904046/full?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 25 maio 2026.

SUKENIK, A. Production of eicosapentaenoic acid by the marine eustigmatophyte Nannochloropsis. **Chemicals from microalgae**, *[S.l.]*, p. 41–56, 1999.

TAGLIAFERRO, G. V.; FILHO, H. J. Izário; CHANDEL, A. K.; DA SILVA, S. S.; SILVA, M. B.; SANTOS, J. C. Effect of nitrogen concentration on the production and composition of Chlorella minutissima biomass in a batch bubble-tank photobioreactor. **Biomass Conversion and Biorefinery**, *[S.l.]*, v. 14, n. 19, p. 23545–23555, 1 out. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13399-023-04523-z.

TAO, Y.; LIU, Z.; ZHENG, J.; ZHOU, J.; HE, D.; MA, J. Microalgae production in human urine: fundamentals, opportunities, and perspectives. **Frontiers in Microbiology**, *[S.l.]*, v. 13, 18 nov. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1067782.

TEH, K. Y.; LOH, S. H.; AZIZ, A.; TAKAHASHI, K.; EFFENDY, A. W. M.; CHA, T. S. Lipid accumulation patterns and role of different fatty acid types towards mitigating salinity fluctuations in *Chlorella vulgaris*. **Scientific Reports**, *[S.l.]*, v. 11, n. 1, p. 438, 11 jan. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-020-79950-3.

VAN VOOREN, G.; LE GRAND, F.; LEGRAND, J.; CUINÉ, S.; PELTIER, G.; PRUVOST, J. Investigation of fatty acids accumulation in *Nannochloropsis oculata* for biodiesel application. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 124, p. 421–432, 2012.

VASILEVA, I. A.; IVANOVA, J. G.; GIGOVA, L. G. Selection of nitrogen source affects the growth and metabolic enzyme activities of *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) strain R-06/2 (Chlorophyta). **Archives of Biological Sciences**, *[S.l.]*, v. 72, n. 2, p. 291–300, 2020.

VAZ, B. S.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. de. CO_2 biofixation by the cyanobacterium *Spirulina* sp. LEB 18 and the green alga *Chlorella fusca* LEB 111 grown using gas effluents and solid residues of thermoelectric origin. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, *[S.l.]*, v. 178, p. 418–429, 2016.

VAZ, S. A.; BADENES, S. M.; PINHEIRO, H. M.; MARTINS, R. C. Recent reports on domestic wastewater treatment using microalgae cultivation: towards a circular economy. **Environmental Technology & Innovation**, *[S.l.]*, v. 30, p. 103107, 1 maio 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103107.

VELÁSQUEZ-ORTA, S. B.; YÁÑEZ-NOGUEZ, I.; RAMÍREZ, I. M.; LEDESMA, M. T. O. Pilot-scale microalgae cultivation and wastewater treatment using high-rate ponds: a meta-analysis. **Environmental Science and Pollution Research**, *[S.l.]*, v. 31, n. 34, p. 46994–47021, 1 jul. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11356-024-34000-7.

WAN MAHARI, W. A.; WAN RAZALI, W. A.; MANAN, H.; HERSI, M. A.; ISHAK, S. D.; CHEAH, W.; CHAN, D. J. C.; SONNE, C.; SHOW, P. L.; LAM, S. S. Recent advances on microalgae cultivation for simultaneous biomass production and removal of wastewater pollutants to achieve circular economy. **Bioresource Technology**, *[S.l.]*, v. 364, p. 128085, nov. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128085.

WANG, J.; ZHOU, W.; CHEN, H.; ZHAN, J.; HE, C.; WANG, Q. Ammonium nitrogen tolerant *Chlorella* strain screening and its damaging effects on photosynthesis. **Frontiers in Microbiology**, *[S.l.]*, v. 9, 7 jan. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03250. Acesso em: 31 jan. 2026.

XU, N.; ZHANG, X.; FAN, X.; HAN, L.; ZENG, C. Effects of nitrogen source and concentration on growth rate and fatty acid composition of *Ellipsoidion* sp. (Eustigmatophyta). **Journal of Applied Phycology**, *[S.l.]*, v. 13, n. 6, p. 463–469, 2001.

YADAV, G.; DASH, S. K.; SEN, R. A biorefinery for valorization of industrial wastewater and flue gas by microalgae for waste mitigation, carbon-dioxide sequestration and algal biomass production. **Science of The Total Environment**, *[S.l.]*, v. 688, p. 129–135, 20 out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.024.

YANG, L.; CHEN, J.; QIN, S.; ZENG, M.; JIANG, Y.; HU, L.; XIAO, P.; HAO, W.; HU, Z.; LEI, A. Growth and lipid accumulation by different nutrients in the microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Biotechnology for Biofuels**, *[S.l.]*, v. 11, n. 1, p. 40, 2018.

YAQUB, M.; NGUYEN, M. N.; LEE, W. Treating reverse osmosis concentrate to address scaling and fouling problems in zero-liquid discharge systems: a scientometric review of global trends. **Science of The Total Environment**, *[S.l.]*, v. 844, p. 157081, 20 out. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157081.

YODSUWAN, N.; SAWAYAMA, S.; SIRISANSANEEYAKUL, S. Effect of nitrogen concentration on growth, lipid production and fatty acid profiles of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. **Agriculture and Natural Resources**, *[S.l.]*, v. 51, n. 3, p. 190–197, 2017.

YONG, W.-K.; LIM, P.-E.; VELLO, V.; SIM, K.-S.; ABDUL MAJID, N.; MUSTAFA, E. M.; NIK SULAIMAN, N. M.; LIEW, K.-E.; CHEN, B. J.-T.; PHANG, S.-M. Metabolic and physiological regulation of *Chlorella* sp. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) under nitrogen deprivation. **Journal of Oceanology and Limnology**, *[S.l.]*, v. 37, n. 1, p. 186–198, 1 jan. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00343-019-7263-5.

YUNIARTI, A.; FAKHRI, M.; ARIFIN, N. B.; HARIATI, A. M. Effects of various nitrogen sources on the growth and biochemical composition of *Chlorella* sp. **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan**, *[S.l.]*, v. 15, n. 2, p. 448, 2023.

ZHANG, S.; ZHANG, L.; XU, G.; LI, F.; LI, X. Frontiers | A review on biodiesel production from microalgae: Influencing parameters and recent advanced technologies. *[S.l.]*, v. 13, 28 jul. 2022. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2022.970028/full?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 30 maio 2026.

ZIGANSHINA, E. E.; BULYNINA, S. S.; ZIGANSHIN, A. M. Growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* in a photobioreactor during the utilization of different forms of nitrogen at various temperatures. **Plants**, *[S.l.]*, v. 11, n. 8, p. 1086, jan. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/plants11081086.

ZOLGHADR-ASLI, B.; MCINTYRE, N.; DJORDJEVIC, S.; FARMANI, R.; PAGLIERO, L.; MARTÍNEZ-ALVAREZ, V.; MAESTRE-VALERO, J. F. A review of limitations and potentials of desalination as a sustainable source of water. **Environmental Science and Pollution Research International**, *[S.l.]*, v. 30, n. 56, p. 118161–118174, dez. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11356-023-30662-x.