



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOQUÍMICA:
PETRÓLEO E MEIO AMBIENTE**

ISADORA MACHADO MARQUES

**INVESTIGAÇÃO BIOGEOQUÍMICA DA REMOÇÃO DE HPAs DA
ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO UTILIZANDO
FOTOBIOREACTORES COM MICROALGAS MARINHAS**

Salvador
2019

ISADORA MACHADO MARQUES

**INVESTIGAÇÃO BIOGEOQUÍMICA DA REMOÇÃO DE HPAs DA
ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO UTILIZANDO
FOTOBIOREACTORES COM MICROALGAS MARINHAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Geoquímica do Petróleo e Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Ícaro Thiago Andrade
Moreira

Co orientador: Prof. Dr. Emerson Andrade
Sales

Salvador

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Machado Marques, Isadora

INVESTIGAÇÃO BIOGEOQUÍMICA DA REMOÇÃO DE HPAs DA
ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO UTILIZANDO FOTOBIOREACTORES
COM MICROALGAS MARINHAS / Isadora Machado Marques. --
Salvador, 2019.

40 f. : il

Orientador: Ícaro Thiago Andrade Moreira.

Coorientador: Emerson Andrade Sales .

Dissertação (Mestrado - Programa de pós-graduação em
geoquímica: petróleo e meio ambiente) -- Universidade
Federal da Bahia, Universidade Federal da Bahia, 2019.

1. Geoquímica. 2. Microbiologia . 3. Microalgas .
4. Remoção de hidrocarbonetos . I. Thiago Andrade
Moreira, Ícaro. II. Andrade Sales , Emerson . III.
Título.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por trazer tantas bênçãos na minha vida. Mesmo quando tudo parecia perdido e sem chance de solução, uma simples oração acalmava, acalentava e iluminava os pensamentos e o coração.

Agradecer imensamente a minha família, principalmente a minha mãe Viliane N. Machado, por ser esta inspiração de uma mulher forte, trabalhadora e ao mesmo tempo uma mãe tão amorosa, dedicada e incrível! Tudo que sou hoje e todas as conquistas que tive foi graças a ela.

Agradecer meu tio Weber N. Machado pela ajuda não apenas por ter conseguido as amostras mais importantes para realizar este trabalho, mas também por ter me incentivado a estudar e continuar com o projeto, além de ser alguém incrível e que se preocupa com as pessoas e está sempre disposto a ajudar. Agradecer ao meu irmão Eric M. Sales, a minha cunhada Jana F. Machado e meus lindos sobrinhos Luan e Gael, por me entenderem, me completarem e me apoiarem nessa caminhada acadêmica. São pessoas que me inspiram muito Amor. Obrigada!

Gostaria de agradecer ao meu Orientador Ícaro T. A. Moreira, por ter dado a primeira oportunidade da minha vida em realizar o trabalho que gostaria na área que queria. Obrigada por ter, desde sempre, acreditado no meu potencial, por ter sido atencioso e paciente. Admiro muito sua dedicação, força, foco e resiliência. São valores que aprendi com você e levarei por toda minha vida. Obrigada por ser um orientador maravilhoso e um Grande Líder.

Agradecer as grandes líderes Adna Caroline e Raiany Santos por todo apoio, incentivo e carinho. Não posso esquecer de agradecer aos meus pupilos do grupo microalgas, pela dedicação e toda ajuda. Muito obrigada por possibilitarem esta experiência enriquecedora e gratificante. Tenho certeza que todos terão um futuro brilhante.

Agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001, que possibilitou a realização desta pesquisa. Agradecer ao programa de pós-graduação em Geoquímica: Petróleo e meio ambiente (POSPETRO).

Agradecer aos laboratórios LEPETRO e LABEC que permitiram o desenvolvimento das análises para realização desta pesquisa. Agradecer a Universidade Salvador (UNIFACS) por ceder espaço para a montagem dos experimentos.

RESUMO

Durante a exploração de petróleo, há geração simultânea de um efluente aquoso denominado água produzida, que contém principalmente metais (tais como Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn, Fe), produtos químicos (inibidores de corrosão e desemulsificantes) e óleos dispersos. Alguns destes componentes oleosos são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), compostos contendo dois ou mais anéis aromáticos e um sistema de ligações duplas hidrofóbicas e lipofílicas, sendo poluentes recalcitrantes, carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos quando biodisponíveis na matriz ambiental. O avanço de tecnologias permite utilizar técnicas como a fitorremediação que é uma das biotecnologias disponíveis para tratamentos de diferentes tipos de efluentes utilizando microrganismos fotossintetizantes. O objetivo do presente trabalho consiste em avaliar biogeoquimicamente o potencial da remoção de HPAs e metais para o tratamento da água produzida de petróleo utilizando um sistema de fotobiorreatores com a microalga marinha *Nannochloropsis oculata*. Foi confeccionado um conjunto de fotobiorreatores com diferentes gradientes de concentrações para testar o tratamento da água produzida. As concentrações de água produzida diluída em água salina (%v/v) foram: PBR (fotobiorreatores) 1 (0%), 2 (25%), 3 (50%), 4 (75%) e 5 (100%). O crescimento microalgal foi monitorado diariamente constatando adaptação em todas as concentrações de água produzida, apresentando concentração celular de $5,24 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ para o PBR 2, $4,09 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ para o PBR 3, $2,77 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ para o PBR 4. A microalga apresentou adaptação ao novo meio de cultivo com até 100%, mantendo-se constante. A remoção de remoção dos HPAs total na água produzida foi de 94%. Compostos orgânicos como o naftaleno, benzo (a) pireno, benzo (b) fluoranteno e acenaftileno apresentaram maiores percentuais de remoção, entre 89 a 99% de eficiência em todas as concentrações. Apenas o ferro e zinco foram os metais detectados, onde o Fe apresentou redução de 100% em todos os PBRs, porém o Zn sofreu aumento no meio devido à formação de cristais precipitados. As microalgas marinhas cultivadas no fotobiorreatores, apresentaram potencial de remoção de HPAs em águas produzida.

Palavras-Chave: Microalgas, água produzida, água salina, tratamento, HPAs.

ABSTRACT

During oil exploration, there is a simultaneous generation of an aqueous effluent called produced water, which contains mainly metals (such as Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn, Fe), chemicals (corrosion inhibitors and demulsifiers) and oils. Scattered. Some of these oily components are polycyclic aromatic hydrocarbons (HPA), compounds containing two or more aromatic rings and a hydrophobic and lipophilic double bond system, being recalcitrant, carcinogenic, teratogenic and mutagenic pollutants when bioavailable in the environmental matrix. Advances in technology allow the use of techniques such as phytoremediation, which is one of the biotechnologies available for treatment of different types of effluents using photosynthetic microorganisms. The objective of the present work is to biogeochemically evaluate the potential of removing HPAs and metals for the treatment of petroleum produced water using a photobioreactor system with the marine microalgae *Nannochloropsis oculata*. A set of photobioreactors with different concentration gradients was made to test the treatment of the produced water. The concentrations of water produced diluted in saline water (% v / v) were: PBR (photobioreactors) 1 (0%), 2 (25%), 3 (50%), 4 (75%) and 5 (100%). Microalgal growth was monitored daily and found adaptation at all concentrations of water produced, with a cell concentration of $5.24 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ for PBR 2, $4.09 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ for PBR 3 and $2.77 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ for PBR 4. The microalgae presented adaptation to the new culture medium with up to 100%, remaining constant. Total removal of HPAs in the produced water was 94%. Organic compounds such as naphthalene, benzo (a) pyrene, benzo (b) fluoranthene and acenaphthylene showed higher removal percentages, ranging from 89 to 99% efficiency at all concentrations. Only iron and zinc were the detected metals, where Fe showed a 100% reduction in all PBRs, but Zn increased in the medium due to the formation of precipitated crystals. The marine microalgae cultivated in photobioreactors showed potential for removal of HPAs in produced waters.

Keywords: Microalgae, produced water, saline water, treatment, PHAs

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	5
2.	OBJETIVOS	7
2.1.	OBJETIVO GERAL	7
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
3.	METODOLOGIA	8
4.	REMOÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS E BIOSORÇÃO DE METAIS EM ÁGUA PRODUZIDA PELA MICROALGA MARINHA <i>Nannochloropsis oculata</i>	9
4.1.	INTRODUÇÃO	10
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS	11
4.2.1.	Temperatura, salinidade, pH e outras análises	11
4.2.2.	Cepas da microalga marinha	11
4.2.3.	Cultivo da microalga em água produzida	12
4.2.4.	Extração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	12
4.2.5.	Extração de metais em água e na biomassa de microalgas	13
4.2.6.	Métodos analíticos	13
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.3.1.	Crescimento de microalgas	15
4.3.2.	Condições de cultivo da microalga para remoção dos HPAs	16
4.3.3.	Remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em água	17
4.3.3.1.	Remoção de compostos de baixo peso molecular	19
4.3.3.2.	Remoção de compostos de peso molecular intermediário	22
4.3.3.3.	Remoção de compostos de alto peso molecular	24
4.3.4.	Concentração de metais em água e na biomassa microalgal	26
4.4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
5.	CONCLUSÃO	29
6.	REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

A exploração do petróleo apresenta grande valor comercial, sendo uma das atividades industriais mais importantes para a sociedade e economia mundial. O Brasil é o país que está na 10ª posição em relação à produção de petróleo no mundo, produzindo cerca de 2,7 milhões de barris/dia (3% do total mundial) de acordo com a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2018). Ao longo dessa produção de petróleo e gás natural, também ocorre a geração simultânea da água produzida, que está presente naturalmente durante a formação geológica (MOTTA *et al.*, 2013).

A água produzida é constituída de uma mistura complexa de metais (tais como Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ag, Ni, Zn), óleos dispersos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), alquenilfenóis (AP's) e alguns produtos químicos adicionados como inibidores de corrosão, inibidores de incrustação, desemulsificantes, metanol, glicol e polieletrólitos (ARRIADA, 2014). A relação de produção água/óleo pode chegar a aproximadamente 3:1 (v/v) de barris/dia, visto que com o envelhecimento dos poços a tendência é que ocorra maior extração de gás e água produzida em relação ao óleo. Uma das alternativas para o reaproveitamento da água produzida consiste na reinjeção ao reservatório, porém com a corrosão e incrustações este processo torna-se muitas vezes inviável para a indústria petrolífera (JIMÉNEZ *et al.*, 2017; GOMES, 2014).

Compostos orgânicos provenientes do petróleo como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) que contêm dois ou mais anéis aromáticos e um sistema de ligações duplas, dando características hidrofóbicas e lipofílicas. Os HPAs são classificados como poluentes altamente perigosos para a saúde humana, pois são compostos recalcitrantes, carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) considerou 16 principais HPAs como poluentes prioritários em relação à exposição humana, toxicidade e frequência de ocorrência, sendo estes: Acenafteno, benzo [ghi] perileno, criseno, acenaftileno, benzo [a] antraceno, benzo [b] fluoranteno, antraceno, benzo [k] fluoranteno, benzo [a] pireno, fluoranteno, Indeno [1,2 , 3-cd] pireno, naftaleno, fenantreno, dibenzo [a , h] antraceno, fluoreno e pireno (USEPA, 2014; MOJIRI *et al.*, 2019).

Quando os HPAs entram em contato com os seres humanos, os efeitos tóxicos são alarmantes, podendo causar desde eventos cardiovasculares, diabetes e estresses oxidativos até mutações genéticas. Uma das principais vias de contato com o ser humano é através da ingestão de alimentos contaminados, resultado da bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar. (HOU *et al.*, 2016). Já os efeitos toxicológicos na fauna e flora são diversos, apresentando alteração na estrutura celular das plantas, no sistema enzimático, fotossintético, respiração e síntese de proteínas e carboidratos (ALEGBELEYE; 2017).

Considerando o potencial tóxico desses compostos, torna-se de extrema importância o devido tratamento da água produzida antes do descarte final. O tratamento biológico vem se destacando entre as tecnologias utilizadas para o tratamento de diferentes tipos de efluentes, sejam industriais (HARIZ *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2016), agrícolas (KHALID *et al.*, 2019) ou urbanos (GOUVEIA *et al.*, 2016; HIDAKA *et al.*, 2014; MENNA *et al.*, 2015).

A utilização de biotecnologias a base de microalgas é caracterizada como um tratamento autossustentável, visto que esses seres microscópicos são fotossintetizantes e podem ser mixotróficos, ou seja, realizam fotossíntese utilizando a luz solar como fonte de energia e biofixação do CO₂ para seu desenvolvimento próprio, mas também são capazes de absorver os carbonos orgânicos provenientes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos como potencial fonte de carbono orgânico (AMMAR; KHADIM; MOHAMED, 2018; MATAMOROS *et al.*, 2015).

Portanto o objetivo desta pesquisa consiste em avaliar biogeoquimicamente o potencial da remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e metais para o tratamento da água produzida utilizando um sistema de fotobiorreatores com microalgas marinhas.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar biogeoquimicamente o potencial de remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e metais da água produzida de petróleo utilizando um sistema de fotobiorreatores com microalgas marinhas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o crescimento e aclimatação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata* em diferentes concentrações de água produzida do petróleo, utilizando um sistema de fotobiorreatores;
- monitorar temporalmente a eficiência da remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e de metais da água produzida do petróleo;
- avaliar a eficiência no tratamento da água produzida no que se refere a remoção dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

3. METODOLOGIA

A metodologia desta dissertação está descrita no formato de artigo, seguindo as normas estabelecidas pela Resolução do Programa de Pós-Graduação em Geoquímica: Petróleo e Meio Ambiente (Pospetro) de nº 01/2012, sendo gerado nesta dissertação um artigo intitulado: “Remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e biosorção de metais em água produzida pela microalga marinha *Nannochloropsis oculata*”. O artigo científico confeccionado será submetido na revista internacional *Algal Research* – Classificada como qualis A1.

4. REMOÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS E BIOSORÇÃO DE METAIS EM ÁGUA PRODUZIDA PELA MICROALGA MARINHA *Nannochloropsis oculata*

Isadora Machado Marques¹, Emerson Andrade Sales², Ícaro Thiago Andrade Moreira³.

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são compostos orgânicos recalcitrantes e tóxicos quando disponíveis no meio ambiente. O processo de bioacumulação em organismos vivos pode afetar seriamente a saúde humana. Portanto o objetivo do presente trabalho consiste em avaliar biogeoquimicamente o potencial da remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e adsorção de metais para o tratamento da água produzida de petróleo utilizando um sistema de fotobiorreatores com a microalga marinha *Nannochloropsis oculata*. Foi confeccionado um conjunto de fotobiorreatores com diferentes gradientes de concentrações para testar a remoção de HPAs considerando a diluição da água produzida pela água salina (%v/v), denominadas de PBR 1 (0%), 2 (25%), 3 (50%), 4 (75%) e 5 (100%). O crescimento microalgal foi monitorado diariamente constatando adaptação das microalgas à adição da água produzida como meio de cultivo, com crescimento celular do PBR 2 ao 5 com $5,24 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹, $4,09 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹, $2,77 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ e $1,17 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹, respectivamente. A eficiência na remoção total dos HPAs na água produzida foi de 94%. Compostos orgânicos como o naftaleno, benzo (a) pireno, benzo (b) fluoranteno e acenafileno apresentaram maiores percentuais de remoção, entre 89 e 99% de eficiência em todas os PBRs. O ferro e zinco foram os metais detectados na água produzida, considerando o Fe com concentração máxima de $1,57 \text{ mg.L}^{-1}$ reduzindo para $<0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ após 28 dias de cultivo. O Zn apresentou aumento de $0,23 \text{ mg.L}^{-1}$ para $3,90 \text{ mg.L}^{-1}$, devido a formação de cristais sendo precipitados no meio. A eficiência da microalga foi demonstrada para remoção de compostos com até dois anéis aromáticos (baixo peso molecular) e de alto peso molecular demonstrando que esta microalga marinha é capaz de contribuir para a degradação de poluentes orgânicos.

Palavras-Chave: Biogeoquímica, água produzida, fotobiorreator, microalgas marinhas, HPAs.

ABSTRACT

Aromatic polycyclic hydrocarbons are recalcitrant and toxic organic compounds when available in the environment. The bioaccumulation process in living organisms can seriously affect human health. Therefore the objective of the present work is to biogeochemically evaluate the potential of the removal of aromatic polycyclic hydrocarbons and metal adsorption for the treatment of petroleum produced water using a photobioreactor system with the *Nannochloropsis oculata* microalgae. A set of photobioreactors with different concentration gradients was made to test the removal of HPAs considering the dilution of water produced by saline water (% v / v), called PBR 1 (0%), 2 (25%), 3 (50%), 4 (75%) and 5 (100%). The microalgal growth was monitored daily, noting the adaptation of microalgae to the addition of water produced as a culture medium, with cell growth from PBR 2 to 5 with $5.24 \cdot 10^7$ cel no ml⁻¹, $4.09 \cdot 10^7$ cel no ml⁻¹, $2,77 \cdot 10^7$ cell no ml⁻¹ and $1.17 \cdot 10^7$ cell no ml⁻¹, respectively. The total removal efficiency of HPAs in the produced water was 94%. Organic compounds such as naphthalene, benzo (a) pyrene, benzo (b) fluoranthene and acenaphthylene showed higher removal percentages, between 89 and 99% efficiency in all PBRs. Iron and zinc were the metals detected in the produced water, considering Fe with a maximum concentration of 1.57 mg.L^{-1} reducing to $<0.1 \text{ mg.L}^{-1}$ after 28 days of cultivation. Zn increased from 0.23 mg.L^{-1} to 3.90 mg.L^{-1} due to the formation of crystals precipitating in the medium. The efficiency of microalgae has been demonstrated to remove compounds with up to two aromatic rings (low molecular weight) and high molecular weight demonstrating that this marine microalgae is capable of contributing to the degradation of organic pollutants.

Keywords: Biogeochemistry, production water, photobioreactor, marine microalgae, PHAs.

4.1. INTRODUÇÃO

A água produzida, quando descartada no ambiente sem tratamento, introduz compostos orgânicos perigosos e tóxicos a saúde humana. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são considerados os compostos que causam impactos significativos pelo processo de bioacumulação e biomagnificação em organismos vivos, promovendo efeitos carcinogênicos e mutagênicos nesses organismos e posteriormente nas células humanas quando consumidos (LUO *et al.*, 2014). Tecnologias que utilizam o tratamento biológico são abordadas por apresentarem vantagens e eficiências que podem ser usados no tratamento da água produzida (GARCÍA DE LLASERA *et al.*, 2018; ARRIADA, 2014).

As aplicações biotecnológicas referentes à técnica de fitorremediação consistem em utilizar espécies de microalgas que se desenvolvem, adaptam-se e removem contaminantes de interesse presentes em águas residuais domésticas, industriais e agrícolas (HARIZ *et al.*, 2017; MENNA *et al.*, 2015; GOUVEIA *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2019). A viabilidade no uso desses microrganismos tem avançado de maneira promissora, pois estes crescem sob diferentes condições de cultivo utilizando compostos orgânicos como fonte de energia para seu crescimento promovendo a biodegradação de hidrocarbonetos e a sua remoção no meio ambiente (HAMOUDA *et al.*, 2016).

Sample *et al.* (1999) apresentaram oito espécies de microalgas capazes de biodegradar compostos aromáticos em condições heterotróficas, ou seja, utilizando o carbono orgânico como fonte de energia. As condições de cultivo e o tipo da espécie de microalga a ser cultivada são fatores que determinam a capacidade de crescimento e remoção dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Considerando esses fatores, espécies de microalgas marinhas como a *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*, são capazes de crescer em águas hipersalinas, como água produzida, removendo hidrocarbonetos do petróleo (AMMAR *et al.*, 2018) e adsorvendo metais em águas residuais (KUMAR *et al.*, 2015).

Deste modo, o objetivo desta pesquisa consiste em avaliar biogeoquimicamente o potencial da remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) e metais (Fe e Zn) para o tratamento da água produzida de petróleo utilizando um sistema de fotobiorreatores com microalga marinha *Nannochloropsis oculata*.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de água produzida foram cedidas pela empresa Petróleo Brasileiro S.A. (Petrobras), provenientes do campo petrolífero de Buracica (BA), localizada no município de Alagoinhas e na bacia do Recôncavo (ANP, 2016). As amostras de água salina foram coletadas no píer do Porto da Barra cujas coordenadas delimitadas foram: 13°00'14.12''S e 38°32'01.81''O.

4.2.1. Temperatura, salinidade, pH e outras análises

A temperatura e o pH foram medidos no local usando termômetro digital (TPM) e tiras indicadoras de pH (Marechal-Nagel). Em laboratório, foi medida a turbidez através do turbidímetro (Turbiquant1500T) com precisão de $\pm 0,05$. O fósforo assimilável foi submetido à leitura em Espectrofotômetro (Agilent UV-Vis) e o nitrogênio amoniacal foi destilado no Kjeldahl e submetido a leitura no Cromatógrafo iônico, ambos pela metodologia APHA (1998). A demanda bioquímica de oxigênio foi analisada em garrafas herméticas dispostas a incubadora por cinco dias a 20°C seguindo Standard Method 5210 B (2012). A salinidade foi medida utilizando o refratômetro manual precisão de $\pm 0,05$.

4.2.2. Cepas da microalga marinha

A espécie de microalga marinha *Nannochloropsis oculata* foi adquirida do *Culture Collection of Algae at The University of Texas at Austin* (UTEX). Após aquisição, foram inoculadas em um meio de cultivo *Conway*, sendo propagadas em série (LOURENÇO, 2006) em erlenmeyers de 3 litros, com temperatura de $20 \pm 0,9$ °C, injeção de ar atmosférico com vazão de 3 L min^{-1} e intensidade luminosa de 3000 lux. A composição do meio de cultivo foi: EDTA 45 g L^{-1} , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $1,3 \text{ g L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,36 \text{ g L}^{-1}$, H_3BO_3 $33,6 \text{ g L}^{-1}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 20 g L^{-1} , NaNO_3 100 g L^{-1} , ZnCl_2 $2,1 \text{ g 100ml}^{-1}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2 g 100ml^{-1} , $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0,90 \text{ g 100ml}^{-1}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2 g 100ml^{-1} . Vitaminas essenciais como Tiamina (100 mg L^{-1}), Cianocovalamina (2 mg L^{-1}) e Biotina (1 mg L^{-1}) também são acrescentadas ao meio. O pH foi ajustado para 6,8. Foram concentrados cerca de $5,65 \times 10^6 \text{ n}^\circ\text{cel mL}^{-1}$ para uso como inóculo no experimento. O volume do inóculo foi referente a 10% do volume total do experimento, portanto cada fotobiorreator recebeu 250 ml de cepas da microalga *N. oculata*.

4.2.3. Cultivo da microalga em água produzida

A microalga *N. oculata* foi cultivada em um sistema de fotobiorreatores cilíndricos de borosilicato com volume útil de 3 litros, porém foram utilizados cerca de 2,5 litros de volume total do experimento. Todos foram planejados em triplicata e considerando um sistema fechado, sem a interferência de microrganismos externos.

As amostras de água produzida foram homogeneizadas, distribuídas e diluídas com água salina esterilizada (autoclavada a 120°C por 15 minutos), de acordo aos gradientes de concentrações pré-estabelecidas e denominadas de: PBR 1 (Meio de cultivo *conway*), PBR 2 (25% (v/v) de água produzida), PBR 3 (50% (v/v) de água produzida), PBR 4 (75% (v/v) de água produzida) e PBR 5 (100% de água produzida).

O PBR 1 são fotobiorreatores contendo 0% de água produzida, sendo constituídos apenas por meio de cultivo *Conway* e cepas de microalgas. A aeração do sistema foi realizada através de compressores de ar automáticos da marca Resun (Ac-1500 - 3 W) com vazão de 3 L min⁻¹. O ar foi filtrado utilizando filtro de Nylon Verticlean (25mm) com tamanho do poro de 0,45 µm. A iluminação foi fornecida através de lâmpadas de LED brancas pontuais frias com intensidade luminosa de 3000 lux cada, sendo monitorado por um luxímetro digital. Foi estabelecido fotoperíodo de 12/12 horas através de um temporizador (Timer digital Bivolt KWE-TM03). A temperatura do sistema foi de 21 ± 0,9°C.

O monitoramento da remoção dos contaminantes escolhidos nesta pesquisa foi planejado em cinco intervalos de tempos diferentes: considerando o 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia, 28º dia. Apenas para análise da concentração de metais, foi realizada coleta no início e no final do experimento (1º dia e após 28 dias respectivamente).

4.2.4. Extração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

As células de microalgas foram separadas do meio por filtração a vácuo através de membranas de microfibras de vidro (GF/B Whatman) previamente calcinadas a 400°C durante 4 horas em forno mufla (EDG). Para a extração de HPAs em água foi feita a extração líquido-líquido em laboratório seguindo a metodologia de Moreira (2014). O solvente extrator utilizado foi diclorometano puro, sendo adicionado 10 µL do padrão *surrogate* (*p-terphenyl*) apresentando recuperação de 90%. O extrato foi concentrado em rotaevaporador (Ika Specials – RV 3 V) para 500 µl em vials calcinados a 400°C durante 4 horas também em forno mufla.

Todas as amostras extraídas foram transferidas para injeção no cromatógrafo a gás acoplado com espectrômetro de massa (GC-MS - HP 6890) da marca Agilent Technologies, com programação de injeção sem divisão de fluxo, com o injetor a 280°C; temperatura inicial da coluna 50°C, isoterma por 1 minuto, taxa de aquecimento de 6°C/min até a temperatura final de 310°C, isoterma de 10 minutos.

4.2.5. Extração de metais em água e na biomassa de microalgas

Os metais mais encontrados na água produzida são: cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), chumbo (Pb), níquel (Ni) e zinco (Zn). Para identificar a presença desses metais na água foram coletadas 90 ml das amostras no início do experimento e após 28 dias de cultivo. As amostras foram filtradas utilizando membranas microfibras de vidro (GF/F Whatman), onde foi separada a biomassa de microalgas da água produzida.

As amostras filtradas e as membranas utilizadas na filtração foram transferidas para uma placa aquecedora (NETLAB – CH01), onde foram submetidas à digestão com ácido nítrico (HNO₃) a 170°C. Após digestão e concentração das amostras, foram feitas as análises químicas utilizando a técnica de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivo - ICP OES da Agilent Technologies (ASTM E686-91, 1998).

4.2.6. Métodos analíticos

A avaliação do crescimento microalgal foi determinada através da densidade celular (nº de Células ml⁻¹) a partir da curva de correlação entre contagem de células utilizando uma câmera de Neubauer (ANDRADE; FILHO 2014) e a absorbância em espectrofotômetro (Agilent Cary 60 UV-Vis) utilizando 680 nm de comprimento de onda (PAHIJA; HUI, 2019). A média e o desvio padrão das triplicatas foram calculados. A curva foi correlacionada com o auxílio do software BioEstat 5.3 (**Equação 1**). O gráfico foi construído no software Microsoft Excel (2010).

$$n^{\circ} \frac{Cel}{ml} = (3E + 07) \times OD_{680nm} + (8E + 06)$$

(Equação 1)

O cálculo da eficiência de remoção dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, foi feito através da **equação 2**, considerando que o M_f refere-se à leitura final da

quantidade total de cada HPA na amostra e M_i à leitura inicial da quantidade total de cada HPA na amostra (Adaptado de NAYAK *et al.*, 2016).

$$\mu M = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

(Equação 2)

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Crescimento de microalgas

A microalga *Nannochloropsis oculata* foi cultivada sob condições mixotróficas e seu perfil de crescimento foi analisado considerando cinco diferentes gradientes de concentração de água produzida diluída em água salina. Considerando que as concentrações foram divididas e denominados: PBR 1 (meio *conway*), PBR 2 (25% (v/v) de água produzida), PBR 3 (50% (v/v) de água produzida), PBR 4 (75% (v/v) de água produzida) e PBR 5 (100% de água produzida), onde são apresentados os resultados na **figura 1**.

Os cinco primeiros dias corresponderam ao processo de aclimação da microalga ao novo meio de cultivo (**Fig 1**). Após esses cinco dias de experimento, o crescimento da microalga *N. oculata* aumentou em 25% em todos os fotobiorreatores, apresentando resistência aos contaminantes orgânicos até alcançar a estabilização celular a partir do 15º dia.

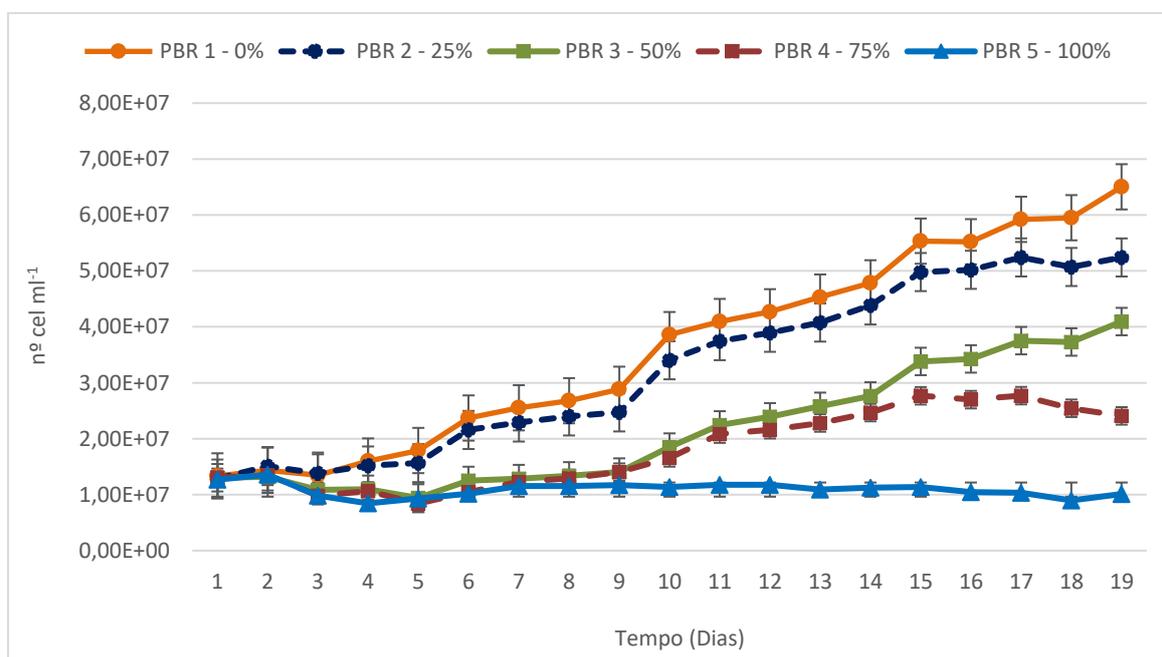


Figura 1 – Efeito de diferentes concentrações de água produzida no crescimento da microalga *Nannochloropsis oculata* medido em nº cel mL⁻¹. Concentrações: PBR 1 – meio *conway*, PBR 2 - 25% (v/v) de água produzida, PBR 3 - 50% (v/v) de água produzida, PBR 4 - 75% (v/v) de água produzida e PBR 5 - 100% de água produzida.

Os resultados demonstram que seu crescimento maior foi apresentado no 19º dia e no meio de cultivo *conway* (PBR 1) com concentração de $6,50 \cdot 10^7$ nº cel mL⁻¹, seguido

do cultivo em água produzida a 25% (PBR 2) apresentando resultado final $5,24 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ e o cultivo em água produzida a 50% (PBR 3) com concentração final de $4,09 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹.

Considerando o PBR 4 (75%) seu maior crescimento foi apresentado no 17º dia com cerca de $2,77 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹ posteriormente inicia seu decaimento. O PBR 5 (100%) apresentou menor crescimento da microalga marinha onde se manteve constante durante o experimento, com cerca de $1,17 \cdot 10^7$ n° cel ml⁻¹. O crescimento constante pode ter sido influenciado pelos íons presentes nos desemulsificantes inseridos na água produzida, onde são introduzidos diretamente antes da coleta da água no poço.

Determinadas espécies apresentam maior sensibilidade aos desemulsificantes utilizados, inibindo os processos de biorremediação, entretanto o uso desses produtos pode facilitar na biodisponibilidade dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos para a biodegradação (GARR *et al.*, 2014; LEWIS; PRYOR, 2013). Os íons dos desmulsificantes, quando em altas concentrações, possuem a capacidade de neutralizar a superfície celular inibindo a multiplicação das mesmas, sendo relatado mesmos resultados em cultivos acima de 50% de água produzida nos experimentos desenvolvidos por Ammar *et al.* (2018).

Mesmo a microalga mantendo sua concentração celular constante no cultivo com 100% de água produzida, a *N. oculata* apresentou adaptar as condições de cultivo e aumento de crescimento em 56% no PBR 4 com 75% de água produzida, o que correlaciona com outros trabalhos desenvolvidos (ARRIADA, 2014; AMMAR *et al.*, 2018).

4.3.2. Condições de cultivo da microalga para remoção dos HPAs

Considerando as condições de cultivo para o crescimento da microalga e remoção dos HPAs, foi feito o monitoramento das concentrações dos macronutrientes de importância, nitrogênio e fósforo, em água para todos os cinco fotobiorreatores estabelecidos, durante 28 dias (**tabela 2**).

A condição de cultivo nesta pesquisa foi mixotrófico, onde Ji *et al.* (2013) consideraram que esses cultivos mixotróficos apresentam condições equivalentes para a remoção de HPAs com relação aos heterotróficos. Para que ocorra a melhor remoção de HPAs, existe um balanço energético nutricional para microalgas que estabelece uma

relação entre carbono orgânico, nitrogênio e fósforo (C:N:P), sendo esta relação adequada para 56:9:1 (JI *et al.*, 2013; MIAO *et al.*, 2016).

A concentração do nitrogênio na água produzida foi de 17,85 mg L⁻¹. Para a água salina foi encontrado cerca de 1,28 mg L⁻¹. A concentração de fósforo na água produzida foi de 0,005 mg L⁻¹. Para a água salina foi de 0,15 mg L⁻¹. Essas condições estabelecem que nesta pesquisa a relação de N:P foi de 3,4:1. Xinet *et al.* (2010) concluíram que as razões de N e P para um bom tratamento de águas residuais podem variar entre 9:1 a 18:1. Estas condições já eram esperadas na pesquisa, visto que a água produzida não apresenta concentrações de fósforo significativo o que sugere ter sido enriquecida tanto com água salina quanto com a adição do fósforo.

Apesar das condições de cultivo não apresentarem relação de equilíbrio entre os macronutrientes, a microalga marinha *N. oculata* apresentou adaptação e crescimento em todas os fotobiorreatores contendo água produzida, além de obter eficiência significativa na remoção dos HPAs em até 94%.

4.3.3. Remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em água

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são determinados como compostos orgânicos estruturados com diferentes arranjos lineares, angulares ou agrupados. Os HPA's são divididos entre baixo peso molecular (Compostos leves que contêm dois ou três anéis), intermediários (contêm quatro anéis) e com alto peso molecular (Compostos mais densos que contêm cinco ou mais anéis). Quanto maior o peso molecular, maior será o ponto de fusão, hidrofobicidade e lipofilicidade do composto, conseqüentemente menor serão a solubilidade em água e pressão de vapor, o que torna a estrutura mais recalcitrante no meio ambiente (ALEGBELEYE *et al.*, 2017).

A **figura 2** apresenta a composição de HPAs quanto ao peso molecular dos compostos em relação à concentração total. A água produzida apresenta, inicialmente, cerca de 99% de compostos leves e 1% para compostos intermediários e de alto peso molecular. A água salina somada ao meio de cultivo *conway*, apresenta cerca de 87% de compostos mais leves, 5% de compostos mais densos e 8% de compostos intermediários. Estes HPAs provenientes da água salina podem ter sido inseridos através da dispersão de efluentes domésticos, precipitação de partículas da atmosfera e lixiviação do solo e rodovias (SANTOS *et al.*, 2018).

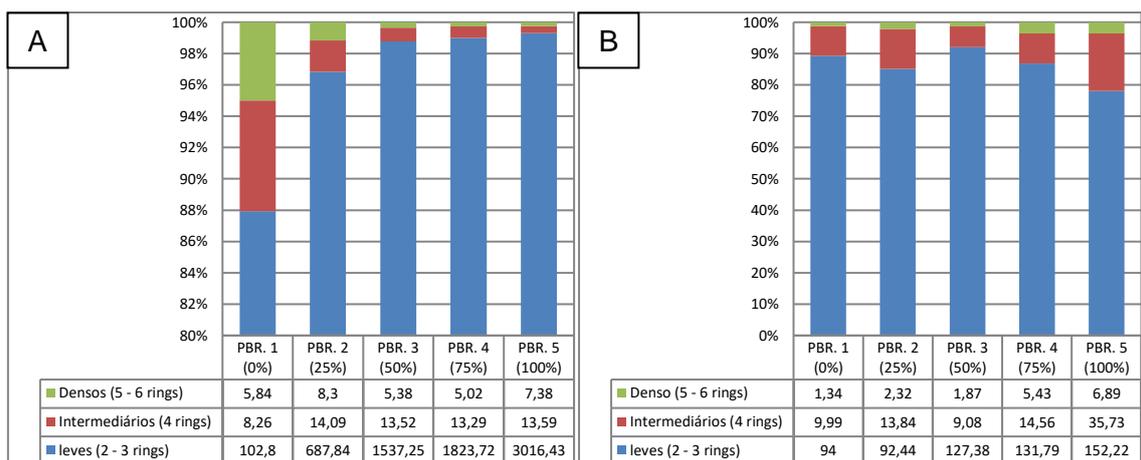


Figura 2 – Composição de HPAs quanto ao peso molecular dos compostos em relação à concentração total. (A) - Composição inicial presente nos cinco gradientes de concentrações diferentes de água produzida. (B) - Composição final presente nos cinco gradientes de concentrações diferentes de água produzida.

Após a exposição da microalga marinha nas concentrações diferentes de HPAs no meio, ocorreu a redução dos compostos de baixo peso molecular e os de alto peso molecular, em todos os PBRs, sendo que a maior redução foi observada no PBR 5 (100%), apresentando cerca de 3.016,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 152,22 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos compostos leves. Esta redução representa cerca de 94%.

Com relação aos compostos de alto peso molecular foi apresentada concentração inicial de 7,38 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 6,89 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os compostos intermediários apresentaram aumento de 13,59 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 35,73 $\mu\text{g L}^{-1}$ (**Tabela 2**).

Tabela 2 -. Composição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com relação ao peso molecular de cada composto presente nos cinco gradientes de concentrações diferentes de água produzida diluída em água salina. Composição de HPAs total em cada gradiente de concentração diferente, bem como a eficiência na remoção desses HPAs no meio, dado em porcentagem.

	Concentração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ($\mu\text{g L}^{-1}$)								
	Concentração inicial			Concentração final			Composição total de HPAs		
	Leves (2 – 4 anéis)	Interme diários (4 anéis)	Densos (5 – 6 anéis)	Leves (2 – 4 anéis)	Interme diários (4 anéis)	Densos (5 – 6 anéis)	Inicial	Final	Eficiência
Meio de cultivo (Conway)	102,8	8,26	5,84	94	9,99	1,34	116,9	105,33	10%
PBR. 2 (25%)	687,84	14,09	8,3	92,44	13,84	2,32	710,23	108,6	85%
PBR. 3 (50%)	1537,25	13,52	5,38	127,38	9,08	1,87	1556,15	138,33	91%
PBR. 4 (75%)	1823,72	13,29	5,02	131,79	14,56	5,43	1842,03	151,78	92%

PBR. 5 (100%)	3016,43	13,59	7,38	152,22	35,73	6,89	3037,4	194,84	94%
------------------	---------	-------	------	--------	-------	------	--------	--------	-----

Apesar de o crescimento microalgal ser reduzido quando aumenta as concentrações de água produzida no meio, foi apresentado aumento da eficiência na remoção de HPAs totais por parte das microalgas quando também se aumenta as concentrações de água produzida, destacando a eficiência de remoção em 10% para PBR 1 (*conway*), 85% para PBR 2 (25%), 91% para PBR 3 (50%), 92% para PBR 4 (75%) e 94% para PBR 5 (100%).

A remoção dos HPAs em água utilizando microalgas, pode ocorrer através de duas vias: pela bioacumulação intracelular ou pela biodegradação (SUBASHCHANDRABOSE *et al.*, 2013). A biodegradação dos compostos policíclicos aromáticos pelas microalgas marinhas ocorre sob condições mixotróficas, sendo os compostos oxidados por enzimas oxiredutases, além disso pode formar frações intermediárias hidroxilados, justificando o aumento das frações intermediárias no meio (ALEGBELEYE *et al.*, 2017).

4.3.3.1. Remoção de compostos de baixo peso molecular

Os compostos de baixo peso molecular possuem de dois a três anéis aromáticos, sendo estes denominados: naftaleno (NAP), acenaftileno (APT), acenafteno (ACE), fluoreno (FLU), fenantreno (PHE), antraceno (ANT). O monitoramento da remoção desses HPAs foi planejado durante vinte e oito dias de experimento sendo estabelecidos cinco intervalos de amostragens diferentes: considerando o tempo inicial no 1º dia, 7º dia, 14º dia, 21º dia e tempo final no 28º dia.

O composto NAP apresentou maior concentração no PBR 5, inicialmente com 2.789,36 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 105 $\mu\text{g L}^{-1}$, constatando eficiência de 96% de remoção (**Fig. 3A**). As menores concentrações foram apresentadas no PBR 1 (meio de cultivo) de NAP com resultado inicial de 73,47 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 59,30 $\mu\text{g L}^{-1}$, apresentando eficiência de apenas 19%. Para os PBRs 2, 3 e 4 foram apresentados valores iniciais de 587,71 $\mu\text{g L}^{-1}$, 1392,39 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1642,80 $\mu\text{g L}^{-1}$, reduzindo para 63,89 $\mu\text{g L}^{-1}$, 86,36 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 93,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

A remoção deste composto pode ter sucedido pela biotransformação em subprodutos metabólitos principais como: 1-naftol, 4-hidroxi-4-tetralona, *cis*-naftaleno di-hidrodiol e *trans*-naftaleno di-hidrodiol, onde apresentam concentrações não tóxicas quando liberados para o meio ambiente (SEMPLE *et al.*, 1999). Outras espécies de microalgas (*Chlorella vulgaris* e *Chlorella pyrenoidosa*) foram capazes de oxidar o NAP através da formação do metabólito 1-naftol subproduto. Estas espécies foram cultivadas em condições axênicas e fototróficas, apresentando crescimento celular e remoção do composto com concentração de 50 mg L⁻¹ em apenas 7 dias, como também observado na presente pesquisa, onde foi removido mais de 78% do NAP em todos os PBRs (KONG *et al.*, 2011).

Considerando o composto APT, a maior concentração foi apresentada no PBR 5 com 8,54 µg L⁻¹ reduzindo para 0,36 µg L⁻¹ obtendo cerca de 95% de eficiência na remoção (**Fig. 3B**). A menor concentração foi no PBR 1 com 0,70 µg L⁻¹ reduzindo para 0,33 µg L⁻¹ com 52% de eficiência. Os resultados de ACE foram constatados redução apenas nos PBRs 1 e 2 contendo inicialmente 5,3 µg L⁻¹ e 9,43 µg L⁻¹ para 0,84 µg L⁻¹ e 0,38 µg L⁻¹ respectivamente (**Fig. 3C**). Para os PBRs 3, 4 e 5 foram constatados aumento nas concentrações inicialmente com 2,81 µg L⁻¹, 3,98 µg L⁻¹ e 4,55 µg L⁻¹ aumentando para 16,34 µg L⁻¹, 13,94 µg L⁻¹ e 12,56 µg L⁻¹ respectivamente.

Em relação ao FLU, o maior resultado também foi no PBR 5 (100%) com redução do FLU após sete dias de cultivo, onde inicialmente era de 49,27 µg L⁻¹ reduzindo para 4,24 µg L⁻¹ com eficiência 91% de remoção (**Fig. 3D**). O menor valor apresentado foi no PBR 2 com 13,40 µg L⁻¹ reduzindo para 3,92 µg L⁻¹, significa 71% de eficiência na remoção do FLU.

Para resultados referentes ao PHE, foi observado no PBR 5 contendo 164,16 µg L⁻¹ inicialmente e com redução para 28,01 µg L⁻¹, apresentando eficiência de remoção de 83%, com relação a este composto (**Fig. 3E**). Em relação aos outros fotobiorreatores como o PBR 2, 3 e 4, apresentaram resultados iniciais de 73,75 µg L⁻¹, 107,49 µg L⁻¹ e 133,91 µg L⁻¹, com redução final de 23,02 µg L⁻¹, 19,81 µg L⁻¹ e 19,66 µg L⁻¹ respectivamente. O PBR 1 apresentou leve aumento com relação aos resultados iniciais de 20,16 µg L⁻¹ para 29,08 µg L⁻¹.

A remoção de PHE pode ocorrer pela biotransformação em metabólitos secundários como constatado por Chen *et al.*, (2006) onde cultivaram a microalga *Selenastrum capricornutum* para avaliar a remoção de HPAs em água. Os resultados iniciais sobre os metabólitos de HPAs revelaram que o PHE foi convertido em quatro monohidroxifenantrenos diferentes (1-, 2-, 3- e 9-hidroxi-fenantreno) e dois dihidroxifenantrenos, possibilitando a remoção de 99% de PHE (CHEN *et al.*, 2006). Esta biotransformação pode ser influenciada pelo princípio de fotodegradação, o uso fotoquímico da luz para envolver nas reações químicas necessárias para quebra de ligação dos compostos (ZHANG *et al.*, 2017).

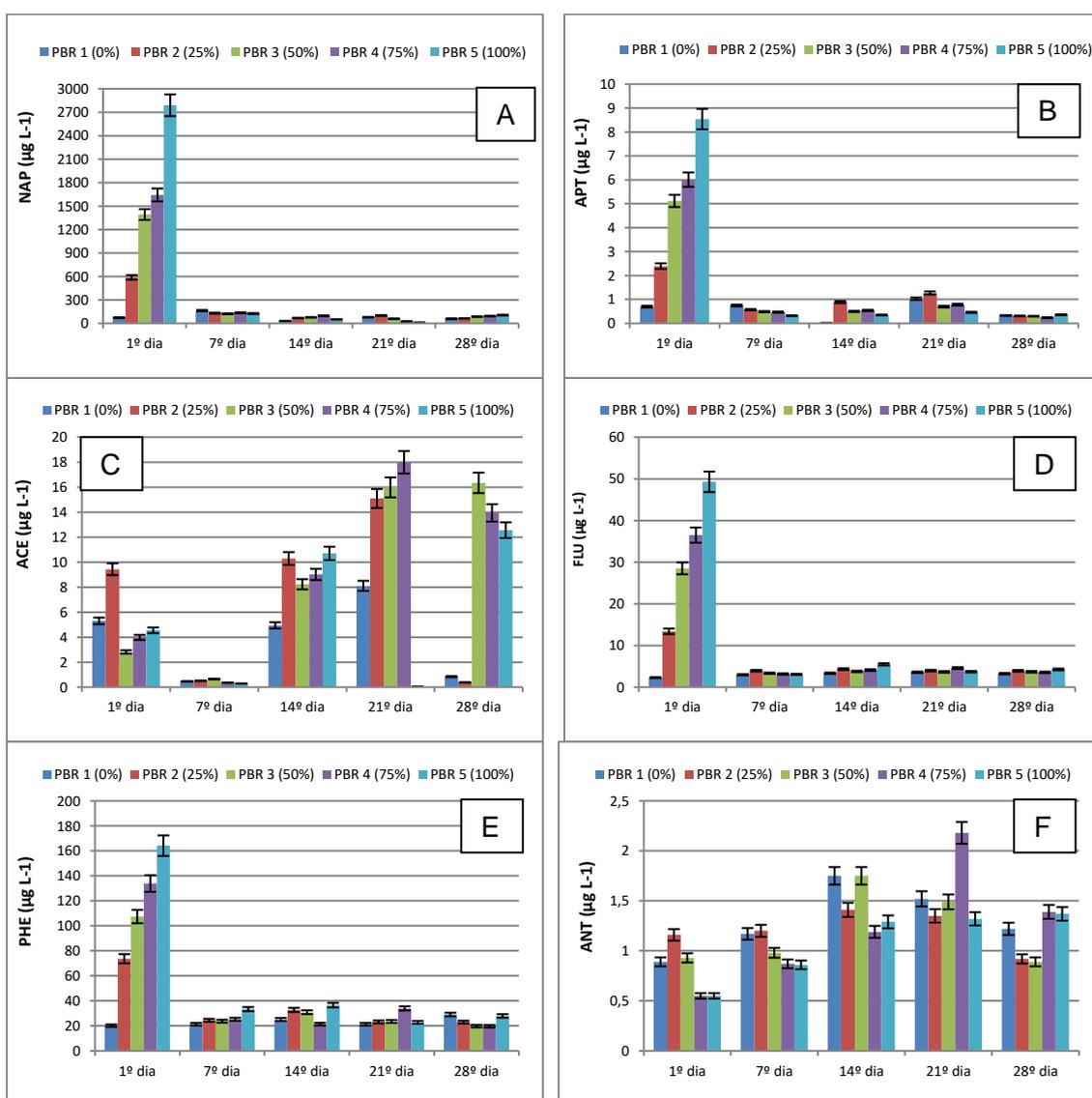


Figura 3 – Monitoramento das concentrações dos compostos de baixo peso molecular: (A) – Naftaleno, (B) – Acenaftileno, (C) – Acenafteno, (D) – Fluoreno, (E) – Fenantreno e (F) – Antraceno, durante vinte e oito dias de cultivo, considerando os cinco forobiorreatores: PBR.1 – meio de cultivo *conway*; PBR. 2 – 25% (v/v) de água produzida diluída com água salina; PBR. 3 – 50% (v/v) de água produzida diluída em

água salina; PBR. 4 – 75% (v/v) de água produzida diluída em água salina; PBR. 5 – 100% de água produzida.

Os resultados de ANT também apresentaram aumento para os PBRs 1, 4 e 5, inicialmente com $0,89 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,55 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,55 \mu\text{g L}^{-1}$ aumentando para $1,22 \mu\text{g L}^{-1}$, $1,30 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1,37 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente (**Fig. 3F**). Apenas os PBRs 2 e 3 ocorreu diminuição dos resultados passando de $1,16 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,93 \mu\text{g L}^{-1}$ para $0,92 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,89 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

O aumento das concentrações ANT pode ser explicado pela teoria da remoção de um anel benzênico do benzo (a) antraceno favorecendo no aumento da concentração de antraceno no meio. Além disso a biomassa de microalgas apresenta sua própria composição de hidrocarbonetos aromáticos, onde foi constatado que a espécie *Nannochloropsis oculata* apresenta frações orgânicas contendo carboidratos que podem ser descarbonatados e fragmentados em oleofinas que eventualmente são convertidas em hidrocarbonetos aromáticos (PENGYU *et al.*, 2018).

4.3.3.2. Remoção de compostos de peso molecular intermediário

Os compostos de peso molecular intermediários são os que possuem quatro anéis aromáticos, sendo estes: Fluoranteno (FOR), pireno (PYT), benzo (a) antraceno (BaA) e criseno (CHR). As concentrações de FOR nos cultivos com PBRs 1, 2 e 3, apesar de apresentarem um aumento no 14º dia, posteriormente permaneceram constante, não apresentando remoção significativa, pois a eficiência foi equivalente a 8% para este composto (**Fig. 4A**). Para os PBRs 4 e 5 apresentam aumento nas concentrações de FOR, inicialmente com $2,74 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,91 \mu\text{g L}^{-1}$ para $4,23 \mu\text{g L}^{-1}$ e $7,53 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente.

Outros compostos apresentaram aumento na concentração, como o PYT após quatorze dias de cultivo. Este aumento foi verificado nos PBRs 1, 2, 4 e 5 apresentando resultados iniciais de $4,83 \mu\text{g L}^{-1}$, $6,77 \mu\text{g L}^{-1}$, $6,28 \mu\text{g L}^{-1}$ e $5,94 \mu\text{g L}^{-1}$ aumentando para $6,11 \mu\text{g L}^{-1}$, $9,07 \mu\text{g L}^{-1}$, $7,03 \mu\text{g L}^{-1}$ e $20,37 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente (**Fig. 4B**). O aumento pode ser explicado pois determinados compostos orgânicos não são

metabolizados por processos enzimáticos, porque são adsorvidos pela área superficial de contato da parede celular de microalgas devido à lipofilicidade do composto (LEI *et al.*, 2007).

O PYT possui quatro anéis aromáticos que influencia na bioacumulação por ser um composto mais estável e recalcitrante em meio aquoso. O aumento dos valores de PYT ao final do experimento pode ser explicado devido à esta bioacumulação pelas microalgas nos primeiros tempos de cultivo e posteriormente a eliminação deste composto para o meio (LEI *et al.*, 2007).

O composto BaA foi removido no PBR 2 (25%) onde inicialmente continha 0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$ com 60% de eficiência na remoção (**Fig. 4C**). Já para o PBR 3 com concentração de 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 0,31 $\mu\text{g L}^{-1}$ apresentou cerca de 44% de eficiência na remoção. Para os outros fotobiorreatores os resultados obtidos apresentaram aumento nas concentrações de BaA, onde os PBRs 1, 4 e 5 inicialmente 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,51 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,51 $\mu\text{g L}^{-1}$ apresentando aumento para 0,34 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,83 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A maior remoção do composto CHR identificado foi no PBR 3 com concentrações iniciais de 3,48 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 0,59 $\mu\text{g L}^{-1}$ com eficiência de 83%. Os PBRs 1 e 2 apresentaram eficiência de remoção em 28% e 74% respectivamente, com concentrações iniciais de 1,04 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 3,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 0,75 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,79 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente (**Fig. 4D**).

Vias metabólicas utilizadas pelas microalgas não são extensamente conhecidas pela ciência, portanto trabalhos como o Li *et al.* (2019) apresentaram alternativas para o uso de outros microrganismos como bactérias hidrocarbonoclasticas, que promovem a quebra de ligação dos compostos mais estáveis favorecendo no crescimento da microalga *Selenastrum capricornutum*, que biodegrada compostos de menor peso molecular juntamente com os metabólitos formados das bactérias, tornando-se uma alternativa importante para a simbiose entre bactérias e microalgas.

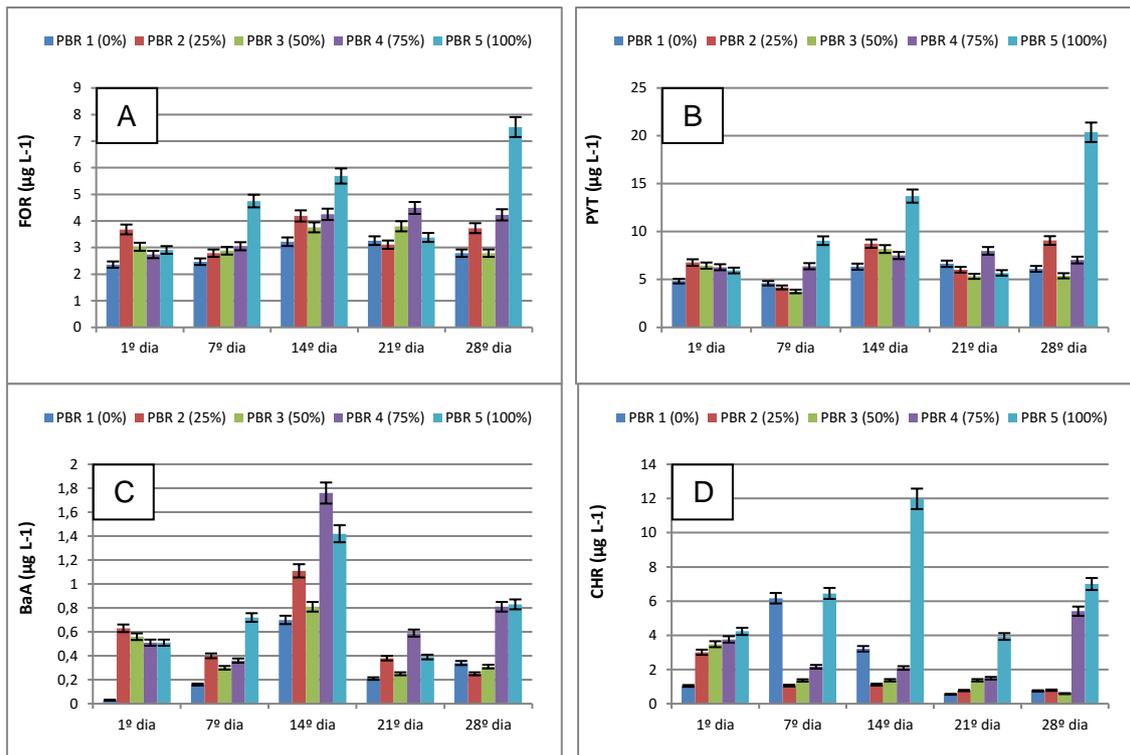


Figura 4 - Monitoramento das concentrações dos compostos intermediários: (A) – Fluoranteno, (B) – Pireno, (C) – Benzo (a) antraceno, (D) – Criseno, durante vinte e oito dias de cultivo, considerando os cinco forobiorreatores: PBR. 1 – meio de cultivo *conway*; PBR. 2 – 25% (v/v) de água produzida com água salina; PBR. 3 – 50% (v/v) de água produzida diluída em água salina; PBR. 4 – 75% (v/v) de água produzida diluída em água salina; PBR. 5 – 100% de água produzida.

4.3.3.3. Remoção de compostos de alto peso molecular

Os compostos de alto peso molecular apresentam cinco a seis anéis aromáticos, sendo estes: Benzo (b) fluoranteno (BbF), benzo (k) fluoranteno (BkF), Indeno1,2,3-c, d pireno (IP), Dibenzo (a,h) antraceno (DahA) e Benzo (g,h,i) perileno (BghiP). Os valores de indenol (1,2,3cd) pireno e dibenzo (ah) antraceno não foram detectados na água produzida e água salina, por apresentarem concentrações abaixo do limite de detecção do equipamento. Portanto nenhuma eficiência de redução foi observada.

Os resultados apresentam eficiência na remoção do BaP em 99% para todos os PBRs apresentados, considerando a maior concentração no PBR 5, inicialmente com $3,17 \mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para $0,26 \mu\text{g L}^{-1}$ (**Fig. 5C**). No PBR 1 a concentração inicial de BaP foi de $1,87 \mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ com 94% de eficiência. Em relação ao PBR 2, inicialmente foi apresentado cerca de $1,95 \mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ e

para os PBRs 3 e 4 foram apresentados inicialmente concentrações de 1,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,78 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, reduzindo para 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ em ambos.

O BaP é um HPA extremamente perigoso por ser carcinogênico. Sua remoção é dada pelas vias metabólicas causada pela enzima dioxigenase, sendo a principal via para a ativar o dioxigênio. O catabolismo dos HPAs pode produzir compostos metabólicos intermediários, entretanto estes compostos podem ser biologicamente ativos e reter a toxicidade (SUBASHCHANDRABOSE *et al.*, 2013).

A redução do composto BbF em água produzida proporcionou eficiência de 99% em todos os PBRs propostos após sete dias de cultivo (**Fig. 5A**). O maior valor obtido com relação ao BbF foi apresentado no PBR 5 inicialmente com 1,98 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduzindo para 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$. A remoção de BbF foi obtido com cerca de 95%. Pesquisas sugerem que os valores de remoção são influenciados quando as microalgas são submetidas a uma mistura e não quando são cultivadas com um composto orgânico isolado (LEI *et al.*, 2007; BLANCO *et al.*, 2016).

A remoção desses compostos em água é resultante da produção de metabólitos facilitadores na degradação, entretanto nem todos os metabólitos produzidos por microalgas são totalmente conhecidos e nem apresentados por todas as espécies utilizadas na remoção de HPA's. Com relação ao BaP, o metabólito mais identificado a partir de 24 horas de cultivo foi o didrodiol formado em 4,5 dBaP na microalga *Selenastrum capricornutum* (BLANCO *et al.*, 2016). Entretanto outros metabólitos podem ser produzidos e identificados como *cis*-di-hidrodiol nos primeiros estágios da biodegradação, portanto sugere-se ser o facilitador na remoção de alguns compostos orgânicos em apenas sete dias de cultivo, como observado na presente pesquisa (GARCÍA DE LLASERA *et al.*, 2017).

Considerando o aumento dos valores do BkF em todos os fotobiorreatores contendo diferentes concentrações de diferentes de água produzida, pode ser explicado devido à baixa solubilidade em água, sendo mais biodisponíveis no meio aquoso, portanto durante o experimento o BkF torna mais biodisponível em água sem a absorção pela microalga. A ordem decrescente de solubilidade em água consistem em: BaA>BaP>BbF>BkF (BLANCO *et al.*, 2016).

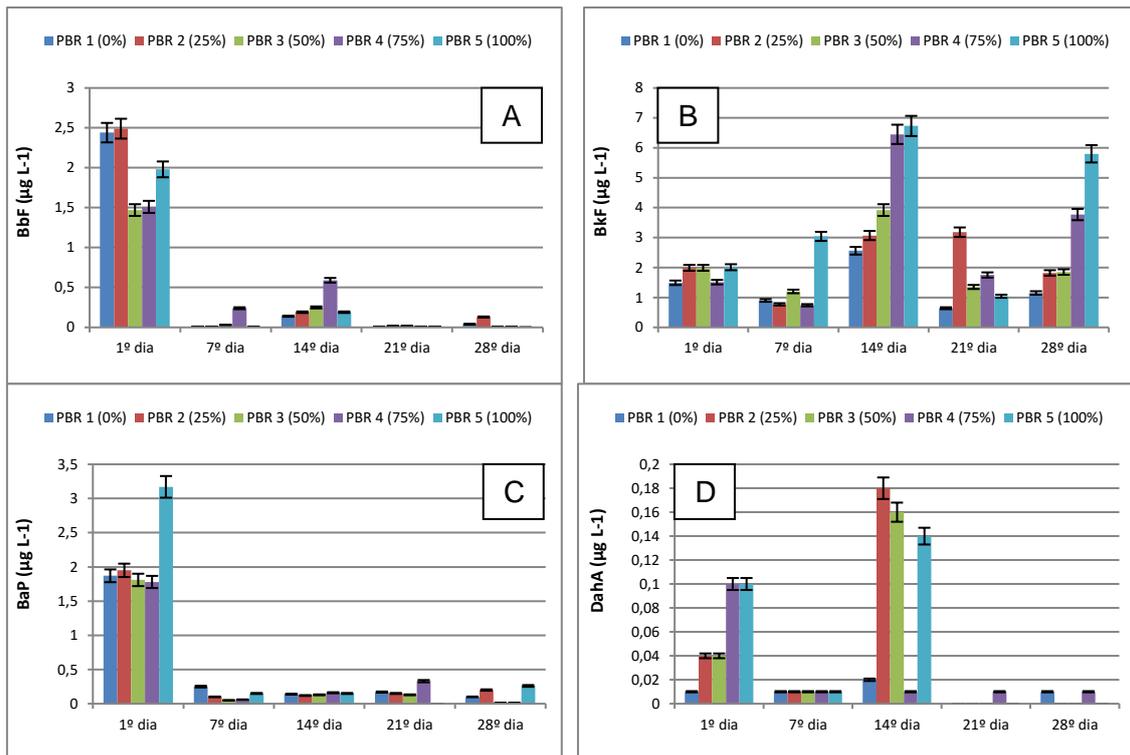


Figura 5 – Monitoramento das concentrações dos compostos de alto peso molecular: (A) – Benzo (b) fluoranteno, (B) – Benzo (k) fluoranteno, (C) – Benzo (a) pireno e (D) – Dibenzo (a,h) anraceno, durante vinte e oito dias de cultivo, considerando os cinco forobiorreatores: PBR. 1 – meio de cultivo *conway*; PBR. 2 – 25% (v/v) de água produzida com água salina; PBR. 3 – 50% (v/v) de água produzida diluída em água salina; PBR. 4 – 75% (v/v) de água produzida diluída em água salina; PBR. 5 – 100% de água produzida.

4.3.4. Concentração de metais em água e na biomassa microalgal

Os principais resultados demonstram concentrações de metais abaixo do limite de detecção do equipamento, como o cádmio (<0,01 mg.L⁻¹), cromo (<0,01mg.L⁻¹), níquel (<0,02 mg.L⁻¹) e chumbo (<0,01 mg.L⁻¹). Ammar *et al.* (2018) realizaram testes de remoção de hidrocarbonetos com a microalga *Nannochloopsis oculata* em água produzida do campo petrolífero de Al-Ahdab localizado na província de Wasit – Iraque. Foi apresentado resultados da caracterização da água residual semelhante ao da presente pesquisa, contendo baixas concentrações dos metais com 0,2 mg L⁻¹ de cromo, 0,2 mg L⁻¹ de níquel, 0,1 mg L⁻¹ de ferro e 1 mg L⁻¹ de zinco.

O ferro (Fe) e zinco (Zn) foram os metais detectados nesta pesquisa, apresentando resultados iniciais de 1,57 ± 0,08 mg.L⁻¹ e 0,23 ± 0,05 respectivamente no PBR 5, com

redução para $< 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ do ferro e aumento para $3,90 \pm 0,46 \text{ mg.L}^{-1}$ de zinco, após 28 dias de cultivo. As menores concentrações encontradas do Fe foram nos PBRs 1 e 2 com $< 0,10 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,22 \pm 0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente, sendo este último reduzido para $< 0,10 \text{ mg.L}^{-1}$. O Fe é extremamente importante para microalgas marinhas por participar de vias biossintéticas da clorofila, citocromos, transporte respiratório de elétrons e transporte fotossintético de elétrons (ABINANDAN *et al.*, 2019; YANG *et al.*, 2017).

A maior concentração de zinco foi encontrada no PBR 1 contendo $0,25 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$ aumentando para $1,36 \pm 0,32 \text{ mg L}^{-1}$. A menor concentração de Zn ocorreu no PBR 4 com $0,12 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$ aumentando para $3,54 \pm 0,65 \text{ mg L}^{-1}$. O aumento dos resultados para Zn foi verificado em todos os PBRs. Areco *et al.* (2018) afirmam que o Zn tende a ser precipitado pelas microalgas ao invés de ser bioacumulado a depender do pH do meio (5 – 6). O zinco pode ser acumulado e formar cristais visíveis nas células internas das microalgas, sendo excretado quando em condições estressantes de cultivo, o que explica o aumento de Zn nos PBRs desta pesquisa (KOPPEL *et al.*, 2019).

4.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi identificado que a microalga marinha *Nannochloropsis oculata* utilizada para a remoção de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em água produzida apresentou maior eficiência na remoção dos compostos de baixo peso molecular (naftaleno, acenaftileno, fluoreno e fenantreno) e de alto peso molecular (benzo (a) fluoranteno e benzo (a) pireno), demonstrando que esta microalga marinha é capaz de contribuir para a degradação de poluentes orgânicos.

Os compostos moleculares intermediários aumentaram de concentração em todos os fotobiorreatores, provavelmente pela formação de metabólitos secundários e subprodutos intermediários através da biodegradação de outros compostos. A retirada de um anel benzênico pode ter influência no aumento das concentrações de outros compostos como pireno e antraceno.

A microalga apresentou adaptação as diferentes concentrações de água produzida diluída em água salina com crescimento celular até o PBR 4 (75%). Apenas no fotobiorreator contendo a água produzida concentrada foi apresentando um leve crescimento e posteriormente inibição e estabilidade celular. Contudo o PBR 5 foi o que apresentou melhor remoção dos compostos, pois as células mortas de microalgas identificam-se como partículas adsorventes no meio permitindo a remoção de HPAs na água.

Os metais são considerados como elementos essenciais para as vias metabólicas da microalga, entretanto o zinco formou precipitado no meio pela excreção da microalga aumentando suas concentrações no meio, devido ao estresse com compostos tóxicos (HPAs). Sugere-se maior investigação sobre as vias metabólicas para entender os processos de biotransformação de HPAs dentro das células de microalgas.

5. CONCLUSÃO

As microalgas marinhas respondem a muitos poluentes orgânicos de várias maneiras, desde a bioacumulação à biodegradação. Estes microrganismos apresentaram o potencial de tolerar meios com alta salinidade e compostos orgânicos perigosos e tóxicos, devido ao seu metabolismo versátil e à sua capacidade de adaptação fisiológica e genética. Foi apresentado que microalgas mixotróficas podem ser empregadas com sucesso para remediar os ambientes poluentes. A vantagem do emprego de microalgas marinhas mixotróficas para fitorremediação é que ocorre a diminuição da concentração de poluentes sem apresentar efeitos adversos no seu crescimento.

O presente trabalho apresenta a necessidade de selecionar microalgas marinhas que demonstrem adaptação aos poluentes orgânicos tóxicos e recalcitrantes, além de proporcionar a remoção e biodegradação efetiva. Sugere-se que sejam investigados mais métodos da biologia molecular que possam ajudar na identificação e seleção de espécies de microalgas marinhas com potencial metabólico mixotrófico desejável para remediação de ambientes poluídos.

Outras espécies de microalgas marinhas devem ser estudadas e identificadas com eficiência na remoção de compostos orgânicos específicos, promovendo o uso de um consórcio e proporcionando maior remoção de HPAs. Consórcio entre microalgas e bactérias também podem proporcionar maior eficiência na biodegradação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

Importante que a biomassa gerada após o tratamento da água produzida seja coletada, avaliada e identificada com potencial de reaproveitamento para geração de bioprodutos de qualidade e que possibilite agregar valor favorecendo a economia circular.

REFERÊNCIAS

ABID, A.; SAIDANE, F.; HAMDY, M. Feasibility of carbon dioxide sequestration by *Spongiochloris sp.* microalgae during petroleum wastewater treatment in airlift bioreactor. **Bioresource Technology**. V. 235, p. 297 – 302. 2017.

ALEGBELEYE, Oluwadara Oluwaseun; OPEOLU, Beatrice Oluwatoyin; JACKSON, Vanessa Angela. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. **Environmental Management**, v. 60, n. 4, p. 758–783, 2017. DOI: 10.1007/s00267-017-0896-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00267-017-0896-2>.

AMMAR, Saad H.; KHADIM, Hussein J.; MOHAMED, Ahmed Isam. Cultivation of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* microalgae in produced water for bioremediation and biomass production. **Environmental Technology and Innovation**, v. 10, p. 132–142, 2018. DOI: 10.1016/j.eti.2018.02.002.

ANDRADE, D. S.; FILHO, A. C. **Potencialidades e desafios do cultivo**. Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR). Paraná. Volume 1. 2014.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Prêmio ANP de inovação tecnológica 2018**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/pesquisa-desenvolvimento-e-inovacao/premio-anp-de-inovacao-tecnologica/edicao-atual>> Acesso em: nov. 2018.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Relatório anual de segurança operacional**. 2015. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/images/Relatorios_SSM/Relatorio_-anual_2015.pdf> Acesso em: nov. 2018.

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Buracica**. 2016.

APHA - American Public Health Association. **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 5210 B**, Washington (USA). Ed. 22ª. 2012.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 th ed. Washington: American Public Health Association, 1998.

ARRIADA, A. A. **Cultivo da microalga marinha *Nannochloropsis oculata* (eustigmatophyceae) em água de produção de petróleo: viabilidade de crescimento, produção de lipídeo e açúcares.** Tese (Doutorado em oceanografia biológica) – Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 69 fl. 2014.

ASTM – American Society for Testing and Materials. **Standard method for evaluation of antimicrobial agents in aqueous metal working fluids** – ASTM E686-91. 1998.

ASTM – American Society for Testing and Materials. **Standard Guide for Displaying Results of Chemical Analyses of Groundwater for Major Ions and Trace Elements - Diagrams Based on Data Analytical Calculations (Withdrawn 2014).** ASTM D5877-95. 2005.

CHEAH, W. Y.; LING, T. C.; SNOW, P. L.; JUAN, J. C.; CHANG, J. S.; LEE, D. J. Cultivation in wastewaters is energy: the microalgae platform. **Applied Energy**. N. 179, p. 609 - 625. 2016.

GARCÍA DE LLASERA, M. P. *et al.* Mini-bioreactors with immobilized microalgae for the removal of benzo(a)anthracene and benzo(a)pyrene from water. **Ecological Engineering**, v. 121, p. 89–98, 2018. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2017.06.059. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.06.059>.

GARR, Amber L.; LARAMORE, Susan; KREBS, William. Toxic effects of oil and dispersant on marine microalgae. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 93, n. 6, p. 654–659, 2014. DOI: 10.1007/s00128-014-1395-2.

GOMES, A. P. P. Gestão Ambiental da Água Produzida na Indústria De Petróleo: Melhores Práticas e Experiências Internacionais. p. 128, 2014. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004.

GOUVEIA, L.; GRAÇA, S.; SOUZA, C.; AMBROSANO, L.; RIBEIRO, B.; BOTREL, E. P.; NETO, P. C.; FERREIRA, A. F.; SILVA, C. M. Microalgae biomass production using wastewater: Treatment and costs Scale-up considerations. **Algal Research**. N. 16, p. 167-176. 2016.

HAMOUDA, R. A. F.; SOROUR, N. M.; YEHEIA, D. S. Biodegradation of crude oil by *Anabaena oryzae*, *Chlorella kessleri* and its consortium under mixotrophic conditions. **International Biodeterioration & Biodegradation**.V. 112, p. 128 – 134. 2016.

HARIZ, H. B.; TAKRIFF, M. S. Palm oil mill effluent treatment and CO₂ sequestration by using microalgae—sustainable strategies for environmental protection. **Environmental Science and Pollution Research**.V. 24, p. 20209 – 20240. 2017.

HIDAKA, T. Growth and anaerobic digestion characteristics of microalgae cultivated using various types of sewage. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 83-89, 2014.

Ji, Min Kyu *et al.* Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 142–148, 2013. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2013.06.020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.020>.

JIMÉNEZ, S.; MICÓ, M.M.; ARNALDO, M.; MEDINA, F.; CONTRERAS, S. State of the Art of Produced Water Treatment. **Chemosphere**. V. 10, p. 139. 2017.

KHALID, Azianabiha A.Halip *et al.* Assessing the feasibility of microalgae cultivation in agricultural wastewater: The nutrient characteristics. **Environmental Technology and Innovation**, v. 15, p. 100402, 2019. DOI: 10.1016/j.eti.2019.100402. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100402>.

KUMAR, K. S.; DAHMS, H. U.; WON, E. J.; LEE, J. S.; SHIN, K. H. Microalgae – A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**.V.113, p. 329 – 352. 2015.

LAM, M.; MOHAMMAD, I. Y.; UEMURA, Y.; LIM, J.; KHOO, C.; LEE, K.; ONG, H. Cultivation of *Chlorella vulgaris* using a nutrient source of Domestic wastewater for biodiesel production: Growth conditions and kinetic studies. **Renewable energy**. v. 103, p. 197 - 207. 2017.

LEWIS M.; PRYOR R. Toxicities of oils, dispersants and dispersed oils to algae and aquatic plants: Review and database value to resource sustainability. **Environmental Pollution**, v. 180 p. 345-367, 2013.

LI, Kun *et al.* Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: A review. **Bioresource Technology**, v. 291, n. July, p. 121934, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121934. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121934>.

LJESEVIC, M.; GOJGIC-CVIJOVIC, G.; IEDA, T.; HASHIMOTO, S.; NAKANO, T.; BULATOVIC, S.; ILIC, M.; BESKOSKI, V. Biodegradation of the aromatic fraction from petroleum diesel fuel by *Oerskovia* sp. followed by comprehensive GC×GC-TOF MS. **Journal of Hazardous Materials**, v. 363, p. 227 – 232. 2019.

LOPEZ, J. R.; RODAS, V. L.; COSTAS, E. Estimating the capability of microalgae to physiological acclimatization and genetic adaptation to petroleum and diesel oil contamination. **Aquatic Toxicology**, v. 124 – 125, p. 227 – 237. 2012.

LOURENÇO. S.O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e aplicações**. Editora RiMa, São Carlos, São Paulo, 2006.

LUANGPIPAT T.; CHISTI Y. Biomass and oil production by *Chlorella vulgaris* and four other microalgae – effects of salinity and other factors. **Journal of biotechnology**, v. 257, p. 47 – 57. 2016.

LUO, Lijuan *et al.* Removal and transformation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons in water by live and dead microalgae. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 10, p. 1723–1732, 2014. DOI: 10.1016/j.procbio.2014.06.026. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.06.026>.

MATAMOROS, Victor.; GUTIÉRREZ, Raquel.; FERRER, Ivet.; GARCIA, Joan.; BAYONA, Josep. M. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: a pilot-scale study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 288, p. 34-42. 2015.

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

MIAO, M.S.; YAO, X.D.; SHU, L.; YAN, Y.J.; WANG, Z.; LI, N.; CUI, X. T.; LIN, Y. M.; KONG, Q. Mixotrophic growth and biochemical analysis of *Chlorella vulgaris* cultivated with domestic synthetic wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**. V. 113, p. 120 - 125. 2016.

MIAO, Ming sheng *et al.* Mixotrophic growth and biochemical analysis of *Chlorella vulgaris* cultivated with synthetic domestic wastewater. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 120–125, 2016. DOI: 10.1016/j.ibiod.2016.04.005.

MOJIRI, Amin *et al.* Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. **Science Of The Total Environment**, v. 696, p.1-10, dez. 2019.

MOREIRA, I. T. A. **Investigação dos possíveis impactos ecológicos do petróleo sobre comunidades biológicas estuarinas na Baía de Todos os Santos e no sul da Bahia: OSA como uma ferramenta norteadora**. 2014. 207 f. Tese (Doutorado em Geologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

MOTTA, A. R. P.; BORGES, C. P.; KIPERSTOK, A.; ESQUERRE, K. P. Tratamento de água produzida de petróleo para remoção de óleo por processos de separação por membranas. **Engenharia Sanitária Ambiental**, V.18 n.1, p. 15-26, 2013.

NAYAK, M.; KAREMORE, A.; WITHOUT, R. Performance evaluation of microalgae for wastewater bioremediation, concomitant CO₂ biofixation and lipid biosynthesis is biodiesel application. **Algal Research**. N. 16, p. 216 - 223. 2016.

OBAFEMI, Y. D.; TAIWO, O. S.; OMODARA, O. J.; DAHUNSI, O. S.; ORANUSI, S. Biodegradation of crude petroleum by bacterial consortia from oil-contaminated soils in Ota, Ogun State, South-Western, Nigeria. **Environmental Technology & Innovation**, v. 12, p. 230 – 242. 2018.

PAHIJA, E.; HUI, Chi Wai. A systematic study on the effects of dynamic environments on microalgae concentration. **Algal Research**, v. 42, n. July, p. 101599, 2019. DOI:

10.1016/j.algal.2019.101599. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101599>.

PETROBRAS. Água Na Petrobras. **Relatório de recursos hídricos**, p. 36, 2018.
Disponível em: <<http://www.petrobras.com.br/pt/sociedade-e-meio-ambiente/meio-ambiente/recursos-hidricos/>> Acesso em: 17 de nov. 2018.

RUGNINI, L.; COSTA, G.; CONGESTRI, R.; BRUNO, L. Testing of two different strains of green microalgae for Cu and Ni removal from aqueous media. **Sciences of the Total Environment**, v. 601 – 602, p. 959 – 967. 2017.

SUBASHCHANDRABOSE, Suresh R. *et al.* Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. **Environment International**, v. 51, p. 59–72, 2013. DOI: 10.1016/j.envint.2012.10.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2012.10.007>.

SUDMALIS, D.; SILVA, P.; TEMMINK, H.; BIJMANS, M. M.; PEREIRA, M.A. Biological treatment of produced water coupled with recovery of neutral lipids. **Water Research**, v. 147, p. 33 – 42. 2018.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Disponível em: <www.epa.gov> Acesso em 10 de jan. de 2017.

WANG, Y.; HO, S. H.; CHENG, C. L.; GUO, W. Q.; NAGARAJAN, D.; REN, N.Q.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. **Bioresource technology**. N. 222, p. 485-497. 2016.

YANG, S.; XU, J.; WANG, Z. M.; BAO, L. J.; ZENG, E. Y. Cultivation of oleaginous microalgae for removal of nutrients and heavy metals from biogas digestates. **Journal of Cleaner Production**. V. 164, p. 793 – 803. 2017.

APÊNDICE

Tabela 1– Apresentação dos resultados das concentrações dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos apresentados em todos os fotobiorreatores com o monitoramento temporal de até vinte e oito dias. Para todos os resultados foi feita média e desvio padrão utilizando os softwares BioEstat 5.0 e o Microsoft Excel versão 2010.

	(% v/v) A.P	1º dia	7º dia	14º dia	21º dia	28º dia
Naftaleno	(PBR 1 - 0%)	73,47±4,91	163,45±10,08	31,12±2,95	79,06±6,55	59,3±6,81
	(PBR 2 - 25%)	587,71±19,23	129,99±3,06	68,48±12,27	101,05±1,41	63,89±11,88
	(PBR 3 - 50%)	1392,39±41,48	122,52±1,93	77,26±25,05	58,91±13,92	86,36±9,79
	(PBR 4 - 75%)	1642,80±166,45	135,68±4,01	96,61±7,86	23,49±5,56	93,01±6,18
	(PRB 5 -100%)	2789,36±93,75	125,98±11,55	51,51±3,12	8,47±1,04	105,68±1,91
Acenaftileno	(PBR 1 -0%)	0,70±0,42	0,75±0,80	0,02±0,01	1,03±0,02	0,33±0,06
	(PBR 2 - 25%)	2,39±0,79	0,57±0,16	0,89±0,03	1,27±0,14	0,31±0,04
	(PBR 3 - 50%)	5,12±0,70	0,49±0,12	0,50±0,14	0,70±0,19	0,30±0,02
	(PBR 4 - 75%)	6,01±0,64	0,47±0,03	0,54±0,06	0,78±0,23	0,24±0,01
	(PRB 5 -100%)	8,54±1,72	0,32±0,07	0,35±0,19	0,46±0,06	0,36±0,06
Acenafteno	(PBR 1 -0%)	5,30±0,96	0,46±0,09	4,94±0,99	8,10±0,91	0,84±0,10
	(PBR 2 - 25%)	9,43±1,84	0,51±0,03	10,29±0,23	15,09±0,14	0,38±0,04
	(PBR 3 - 50%)	2,81±0,07	0,65±,13	8,23±0,01	15,98±1,84	16,34±0,23
	(PBR 4 - 75%)	3,98±0,56	0,36±0,02	9,02±1,85	17,99±2,01	13,94±0,01
	(PRB 5 -100%)	4,55±0,39	0,29±0,04	10,70±0,94	0,02±0,02	12,56±0,87
Fluoreno	(PBR 1 -0%)	2,28±0,28	2,96±0,98	3,33±0,19	3,56±0,06	3,23±0,75
	(PBR 2 - 25%)	13,40±1,08	3,95±0,30	4,3±0,64	3,97±0,22	3,92±0,08
	(PBR 3 - 50%)	28,51±3,42	3,33±0,05	3,76±0,29	3,66±0,16	3,68±0,05
	(PBR 4 - 75%)	36,47±3,59	3,15±0,15	4,08±0,07	4,56±0,36	3,55±0,40
	(PRB 5 -100%)	49,27±1,45	3,07±0,15	5,47±1,21	3,71±0,14	4,24±0,31
Fenantreno	(PBR 1 -0%)	20,16±1,32	21,34±3,04	25,15±2,34	21,31±2,15	29,08±2,51
	(PBR 2 - 25%)	73,75±0,19	24,47±2,88	32,78±5,05	23,18±1,87	23,02±1,25
	(PBR 3 - 50%)	107,49±0,76	23,77±1,69	30,93±1,98	23,51±1,29	19,81±1,76
	(PBR 4 - 75%)	133,91±17,40	25,28±0,51	21,45±0,61	33,98±0,47	19,66±1,32
	(PRB 5 -100%)	164,16±26,21	33,42±4,02	36,55±0,84	22,83±4,07	28,01±1,87
Antraceno	(PBR 1 -0%)	0,89±0,28	1,17±0,38	1,75±0,04	1,52±0,14	1,22±0,01
	(PBR 2 - 25%)	1,16±0,41	1,2±0,26	1,41±0,12	1,35±0,34	0,92±0,24
	(PBR 3 - 50%)	0,93±0,32	0,98±0,05	1,75±0,31	1,49±0,04	0,89±0,10
	(PBR 4 - 75%)	0,55±0,13	0,87±0,20	1,19±0,03	2,18±0,60	1,39±0,37
	(PRB 5 -100%)	0,55±0,11	0,86±0,02	1,29±0,26	1,32±0,43	1,37±0,30
Fluoranteno	(PBR 1 -0%)	2,36±0,23	2,47±0,46	3,22±0,19	3,26±1,68	2,79±0,73
	(PBR 2 - 25%)	3,68±0,63	2,79±0,66	4,19±0,49	3,11±0,53	3,73±0,12
	(PBR 3 - 50%)	3,03±0,62	2,88±0,24	3,76±1,36	3,8±0,22	2,79±0,09
	(PBR 4 - 75%)	2,74±0,49	3,05±0,42	4,25±0,07	4,49±0,19	4,23±1,85

	(PRB 5 -100%)	2,91±0,35	4,75±0,35	5,69±0,62	3,38±0,72	7,53±0,93
	(PBR 1 -0%)	4,83±0,35	4,61±0,10	6,34±0,39	6,64±0,09	6,11±0,77
Pireno	(PBR 2 - 25%)	6,77±1,13	4,17±0,89	8,74±1,71	6,02±0,88	9,07±1,02
	(PBR 3 - 50%)	6,45±0,47	3,75±0,28	8,18±3,90	5,33±0,71	5,39±2,04
	(PBR 4 - 75%)	6,28±0,57	6,39±0,19	7,51±1,96	7,99±0,12	7,03±0,91
	(PRB 5 -100%)	5,94±0,89	9,05±1,53	13,71±1,00	5,69±0,24	20,37±4,05
	(PBR 1 -0%)	0,03±0,01	0,16±0,03	0,7±0,06	0,21±0,02	0,34±0,04
Benzo (a)antraceno	(PBR 2 - 25%)	0,63±0,21	0,4±0,24	1,11±0,27	0,38±0,06	0,25±0,09
	(PBR 3 - 50%)	0,56±0,14	0,3±0,08	0,81±0,78	0,25±0,04	0,31±0,11
	(PBR 4 - 75%)	0,51±0,07	0,36±0,01	1,76±0,77	0,59±0,05	0,81±0,10
	(PRB 5 -100%)	0,51±0,11	0,72±0,13	1,42±0,24	0,39±0,17	0,83±0,15
	(PBR 1 -0%)	1,04±0,10	6,17±0,27	3,21±2,06	0,55±0,04	0,75±0,13
Criseno	(PBR 2 - 25%)	3,01±1,55	1,06±0,73	1,12±0,63	0,77±0,08	0,79±0,16
	(PBR 3 - 50%)	3,48±0,28	1,36±0,49	1,37±0,01	1,37±0,01	0,59±0,10
	(PBR 4 - 75%)	3,76±0,54	2,16±0,26	2,09±0,01	1,49±0,17	5,41±1,41
	(PRB 5 -100%)	4,23±1,52	6,45±0,17	11,98±3,75	3,93±1,34	7,00±1,15
	(PBR 1 -0%)	2,44±0,96	0,01±0,01	0,14±0,03	0,01±0,01	0,04±0,02
Benzo (b) fluoranteno	(PBR 2 - 25%)	2,49±0,85	0,01±0,01	0,19±0,02	0,02±0,01	0,13±0,09
	(PBR 3 - 50%)	1,47±0,18	0,03±0,02	0,25±0,01	0,02±0,01	0,01±0,01
	(PBR 4 - 75%)	1,51±0,34	0,24±0,04	0,59±0,12	0,01±0,01	0,01±0,01
	(PRB 5 -100%)	1,98±0,96	0,01±0,01	0,19±0,07	0,01±0,01	0,00±0,00
	(PBR 1 -0%)	1,49±0,21	0,90±0,45	2,56±0,99	0,64±0,2	1,15±0,40
Benzo (k) fluoranteno	(PBR 2 - 25%)	1,99±0,07	0,77±0,54	3,07±0,01	3,18±0,74	1,82±0,68
	(PBR 3 - 50%)	1,99±0,12	1,20±0,36	3,92±1,77	1,35±0,26	1,85±0,01
	(PBR 4 - 75%)	1,51±0,54	0,74±0,14	6,45±1,03	1,75±0,59	3,77±0,25
	(PRB 5 -100%)	2,01±1,06	3,04±0,60	6,73±0,51	1,04±0,17	5,80±1,48
	(PBR 1 -0%)	1,87±0,31	0,25±0,10	0,14±0,08	0,17±0,06	0,10±0,02
Benzo (a) pireno	(PBR 2 - 25%)	1,95±0,98	0,10±0,08	0,12±0,06	0,15±0,07	0,20±0,13
	(PBR 3 - 50%)	1,81±0,71	0,05±0,01	0,13±0,07	0,13±0,11	0,01±0,00
	(PBR 4 - 75%)	1,78±0,12	0,06±0,03	0,16±0,06	0,33±0,04	0,01±0,00
	(PRB 5 -100%)	3,17±0,49	0,15±0,07	0,15±0,03	0,00±0,00	0,26±0,02
	(PBR 1 -0%)	0,01±0,00	0,00±0,00	0,03±0,01	0,00±0,00	0,02±0,01
Indeno1,2,3-c, d pireno	(PBR 2 - 25%)	0,02±0,00	0,01±0,01	0,07±0,02	0,00±0,00	0,00±0,00
	(PBR 3 - 50%)	0,02±0,01	0,01±0,01	0,00±0,00	0,01±0,01	0,00±0,00
	(PBR 4 - 75%)	0,1±0,00	0,00±0,00	0,05±0,05	0,01±0,00	0,00±0,00
	(PRB 5 -100%)	0,1±0,0	0,59±0,01	0,13±,03	0,01±0,01	0,00±0,00
	(PBR 1 -0%)	0,01±0,00	0,01±0,00	0,02±0,01	0,00±0,0	0,01±0,00
Dibenzo (a,h) antraceno	(PBR 2 - 25%)	0,04±0,02	0,01±0,00	0,18±0,04	0,00±0,00	0,00±0,00
	(PBR 3 - 50%)	0,04±0,00	0,01±0,00	0,16±0,07	0,00±0,1	0,00±0,00
	(PBR 4 - 75%)	0,1±,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00
	(PRB 5 -100%)	0,1±0,00	0,01±0,00	0,14±0,03	0,00±0,00	0,00±0,00
	(PBR 1 -0%)	0,02±0,01	0,20±0,00	1,08±0,18	0,18±0,00	0,02±0,00
Benzo (g,h,i) perileno	(PBR 2 - 25%)	1,81±0,71	0,28±0,00	0,68±0,09	0,01±0,00	0,17±0,06

(PBR 3 - 50%)	0,05±0,02	0,02±0,02	0,55±0,27	0,25±0,06	0,00±0,00
(PBR 4 - 75%)	0,02±0,02	0,17±0,03	0,58±0,20	0,24±0,10	1,63±0,26
(PRB 5 -100%)	0,02±0,02	1,33±0,13	1,72±0,03	0,01±0,00	0,83±0,11
