

**JULIA CATARINE NICODEMOS DE SANTANA**

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA DO DINOFLAGELADO *Symbiodinium glynnii*  
CULTIVADO EM ÁGUAS RESIDUAIS DA AQUICULTURA**

**Recife,  
Dezembro/2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO  
BACHAREL EM ENGENHARIA DE PESCA**

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA DO DINOFLAGELADO *Symbiodinium glynnii*  
CULTIVADO EM ÁGUAS RESIDUAIS DA AQUICULTURA**

**JULIA CATARINE NICODEMOS DE SANTANA**

Trabalho de equiparação de ESO apresentado ao Curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como exigência para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca.

**Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez**

**Orientador**

**Prof. Dr. Carlos Yure Barbosa de Oliveira**

**Coorientador**

**Recife,  
Dezembro/2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S232c

Santana, Julia Catarine Nicodemos

Caracterização da biomassa do dinoflagelado *Symbiodinium glynnii* cultivado em águas residuais da aquicultura /  
Julia Catarine Nicodemos Santana. - 2023.  
20 f. : il.

Orientador: Alfredo Olivera Galvez.

Coorientador: Carlos Yure Barbosa de Oliveira.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em  
Engenharia de Pesca, Recife, 2023.

1. Dinoflagelado. 2. Águas residuais. 3. Aquicultura. 4. Biomassa. I. Galvez, Alfredo Olivera, orient. II. Oliveira,  
Carlos Yure Barbosa de, coorient. III. Título

CDD 639.3

---

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**  
**BACHAREL EM ENGENHARIA DE PESCA**

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA DO DINOFLAGELADO *Symbiodinium glynnii***  
**CULTIVADO EM ÁGUAS RESIDUAIS DA AQUICULTURA**

**Julia Catarine Nicodemos de Santana**

ESO julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca. Defendida e aprovada em 13/12/2023 pela seguinte Banca Examinadora.

---

**Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez**

(Orientador)

[Departamento de Pesca e Aquicultura]  
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

---

**Dra. Jéssika Lima de Abreu**

(Membro titular)

[Departamento de Pesca e Aquicultura]  
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

---

**Me. Deyvid Willame Silva Oliveira**

(Membro titular)

[Departamento de Pesca e Aquicultura]  
[Universidade Federal Rural de Pernambuco]

---

**Ma. Bárbara de Cássia Soares Brandão**

(Membro suplente)

[Departamento de Pesca e Aquicultura]

## **Agradecimentos**

*Agradeço primeiramente a Deus, por ter me amparado e me dado forças ao longo de toda a minha vida. Sem ele eu não seria nada.*

*Agradeço aos meus pais, Carlos Augusto da Silva Cavalcanti e Pollyana Mary Soares Nicodemos, por todo amor e apoio que recebi e recebo dos mesmos, além de sempre me apoiarem e me incentivaram a seguir meu sonho. Apesar das dificuldades, nunca me deixaram desistir de alcançar meus objetivos através do estudo.*

*Agradeço ao meu orientador, Alfredo Olivera Gálvez, por toda a ajuda e dedicação durante toda a graduação. Fica a minha admiração.*

*Á todos integrantes do LAPAVI e LAMARSU, por me ajudarem e por todo o conhecimento e experiência adquirida.*

*Não poderia deixar de agradecer aos meus colegas de curso, em especial, aos meus colegas de turma. Todo o companheirismo e vivências com os mesmos me fizeram crescer como pessoa e principalmente, como futura profissional.*

*Por fim, agradeço a todos os professores e funcionários do DEPAQ, pelo aprendizado e pela dedicação durante esses anos.*

## Resumo

As águas residuais da aquicultura são ricas em elementos químicos essenciais para o bom crescimento das microalgas, por exemplo: nitrogênio, fósforo e carbono. A utilização das microalgas no tratamento de efluentes é considerado um meio econômico e sustentável para conseguir remover os nutrientes dissolvidos nos efluentes e, portanto, produzir uma biomassa com biomoléculas para compensar os custos de tratamento da água. Os dinoflagelados são organismos unicelulares e que estão presentes em todas as latitudes e abundantes em águas marinhas tropicais e subtropicais. Diante disso, este trabalho teve o objetivo de avaliar a composição bioquímica do dinoflagelado marinho *Symbiodinium glynnii* cultivado em águas residuais da aquicultura. O experimento foi realizado no Laboratório de Produção de Alimento Vivo- LAPAVI, localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) onde foram avaliados os parâmetros de crescimento e produção de biomassa do dinoflagelado. Após o cultivo, a biomassa dos diferentes tratamentos foi centrifugada (a  $3.000 \times g$  por 6 min) e seca em um liofilizador em alto vácuo ( $150 \times 10^{-3}$  mbar) e baixas temperaturas  $-50 \pm 2^\circ C$  por 48 horas. Alíquotas de aproximadamente 200 mg da biomassa seca de cada tratamento foram submetidas a digestão, destilação e titulação por meio do método Kjeldahl, para determinação do nitrogênio total. Os tratamentos utilizados foram: controle (100% meio de cultura f/2 Guillard), R25% (25% água residual e 75% meio de cultura), R50% (50% água residual e 50% meio de cultura), R75% ( 75% água residual e 25% meio de cultura) e R100% ( 100% água residual). Foram considerados os tratamentos de 50, 75 e 100% pois tiveram melhores resultados de crescimento e além disso, possuíam biomassa suficiente para realização das análises. Para proteína total houve maior produtividade no tratamento 100%, e menor produtividade no tratamento 50%. Os lipídios brutos, apresentou maior produtividade no tratamento 100% e menor lipídios brutos no tratamento 50%, e com relação à produtividade de biomassa e crescimento, houve maior produtividade no tratamento 100% e nos tratamentos 50% e 75% tiveram a mesma produtividade. Pode-se concluir que o uso de 75% de efluente de aquicultura não prejudica o crescimento da microalga e não confere grandes alterações na composição bioquímica da biomassa.

**Palavras-chaves:** dinoflagelados; águas residuais; biomassa.

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Cultivos para o experimento.....	11
<b>Figura 2.</b> Exemplo de centrífuga utilizada.....	12
<b>Figura 3.</b> Experimento sendo montado.....	13
<b>Figura 4.</b> Composição bioquímica da biomassa do dinoflagelado <i>Symbiodinium glynnii</i> cultivado sob diferentes níveis de águas residuais da aquicultura .....	15
<b>Figura 5.</b> Gráfico de análise de pigmentos do dinoflagelado <i>Symbiodinium glynnii</i> cultivado sob diferentes níveis de águas residuais da aquicultura .....	16

## **Sumário**

1. Introdução	8
2. Objetivos	10
3. Hipótese	10
4. Material e métodos	10
4.1. <i>Cepa e cultivo da microalga</i>	10
4.2. <i>Processamento e secagem da biomassa.</i>	11
4.3. <i>Análise de proteínas e lipídios</i>	12
4.4 <i>Análise de pigmentos</i>	13
4.5 <i>Atividade antioxidante</i>	14
4.6. <i>Análise estatística</i>	14
5. Resultados e Discussão	14
6. Considerações Finais	17
7. Conclusão	17
8. Referências bibliográficas	17
9. Dificuldades Encontradas	20

## 1. Introdução

As águas residuais da aquicultura são ricas em elementos químicos essenciais para um bom crescimento das microalgas, dentre eles estão: nitrogênio, fósforo e carbono orgânico (LUGO *et al.*, 2020), e, portanto, apresentam um bom potencial para uso como meio de cultura para o crescimento das microalgas (CRAB *et al.*, 2007).

O sistema de bioflocos surgiu como alternativa para fazer o papel de captar impurezas que ficam na água, e assim, transformá-las em nutrientes importantes para o consumo dos organismos que serão cultivados. Apesar de obter ótimos resultados com os organismos cultivados, infelizmente ainda existem alguns problemas, entre eles é a elevada carga de nutrientes que estão presentes nos efluentes, principalmente os compostos nitrogenados e os fosfatados, onde são acumulados no decorrer dos ciclos produtivos. Por esse motivo, são utilizados organismos filtradores e os assimiladores de nutrientes, como por exemplo, microalgas, macroalgas e moluscos (GAONA *et al.*, 2011) para a biorremediação desses efluentes, assim, torna-se uma alternativa para o cultivo e a produção desses organismos, já que se apresentam como uma fonte de nutriente bastante importante.

A utilização das microalgas no tratamento de efluentes é considerado um meio econômico e sustentável para conseguir remover os nutrientes dissolvidos dos efluentes e, portanto, produzir uma biomassa com biomoléculas para compensar os custos de tratamento da água, pois esse processo apresenta alto custo e não agregam valor (SCHULZE *et al.*, 2017). As microalgas possuem capacidade de melhorar a qualidade do efluente através da absorção dos nutrientes presentes e de incorporar alguns outros contaminantes (DEVI *et al.*, 2012).

Sabe-se que os dinoflagelados são organismos unicelulares e que estão presentes em todas as latitudes, além de serem os mais diversos e abundantes em águas marinhas tropicais e subtropicais. Esses organismos estão distribuídos nos mais distintos ambientes aquáticos, podendo ser encontrados em ambientes marinhos, estuarinos ou dulcícolas (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 2013). Os dinoflagelados podem ser fotoautotróficos, heterotróficos ou mixotróficos, ou seja, em determinada fase do seu ciclo de vida, eles se comportam como heterotróficos, dependendo da disponibilidade de nutrientes. Cerca de 13 a 16% dos dinoflagelados vivos, podem produzir cisto durante o seu ciclo de vida, portanto, acabam constituindo uma parte importante da população fitoplanctônica nos ecossistemas aquáticos (DALE *et al.*, 2001).

Os dinoflagelados da família *Symbiodiniaceae* são fontes de compostos de alta

complexidade estrutural, como polihidroxis e poliéteres ou os chamados “compostos de cadeia supercarbonatada (SCCs)”, compostos de cadeias longas funcionalizadas por oxigênio. Os SCCs de *Symbiodiniaceae* são metabólitos policetídeos, que são biossintetizados por meio de um mecanismo de linha de montagem por duas importantes classes de enzimas modulares (BEEDESSEE et al. 2019). As sínteses desses compostos também estão intimamente relacionadas às sínteses de ácidos graxos e compartilham o mesmo núcleo de atividades enzimáticas, implicando uma história evolutiva comum. No entanto, devido ao insucesso no cultivo de dinoflagelados, não há uma literatura vasta sobre como esses compostos e sua biossíntese podem ser afetados.

Os dinoflagelados podem utilizar as vias heterotróficas para obtenção de energia. Em crescimento fotoautotrófico, os dinoflagelados apresentam baixa produtividade por causa da baixa eficiência fotossintética e também alguns fenômenos associados aos altos sombreamento celular (RODRÍGUEZ et al., 2012). O carbono é o macronutriente considerado o mais importante, pois cerca de 50 % da biomassa celular é composta por esse elemento e pode ser um fator limitante para o desenvolvimento da cultura (GROBBELAAR et al., 2004). Algumas microalgas são capazes de modificar a relação de nitrogênio e fósforo em sua biomassa com base na disponibilidade desses compostos no ambiente já o consumo do carbono tende a continuar na mesma proporção, visto que é um componente primário essencial na fotossíntese.

Mas não só os metabólitos secundários produzidos por dinoflagelados possuem interesse comercial. A biomassa desse grupo de microalgas pode ser rica em pigmentos, como peridina,  $\beta$ -caroteno, além das clorofilas, e ácidos graxos poli-insaturados (JEFFREY et al., 1975; MOLINA-MIRAS et al., 2018). Interessantemente, o conteúdo dos ácidos graxos eicosapentaenoico (EPA) e docosaenoico (DHA) podem atingir até 65 e 57% do peso seco total dos dinoflagelados *Amphidinium carterae* e *Cryptothecodinium cohnii*, respectivamente (JIANG e CHEN, 2020). É válido ressaltar, que esses valores são até quatro vezes superiores ao comumente reportados para as microalgas *Pavlova* spp. e *Isochrysis galbana*, comumente empregadas em larviculturas de peixes e crustáceos marinhos e na produção de moluscos bivalves (LIM et al., 2020).

Dentro deste contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a composição bioquímica do dinoflagelado marinho *Symbiodinium glennii* cultivado em águas residuais da aquicultura.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo geral

Avaliar a composição bioquímica do dinoflagelado marinho *Symbiodinium glynnii* cultivado em águas residuais da aquicultura.

### 2.2. Objetivos específicos

- Avaliar os teores de proteína e lipídios da biomassa do *Symbiodinium glynnii*;
- Contribuir com o conhecimento acerca da composição bioquímica de dinoflagelados marinhos;
- Determinar os teores de pigmentos fotossintéticos presentes na biomassa de *Symbiodinium glynnii* cultivado em efluente de aquicultura;
- Avaliar o potencial antioxidante de extratos da biomassa de *Symbiodinium glynnii* cultivado em efluente de aquicultura.

## 3. Hipótese

O uso do efluente de 75% de água residual é eficaz como meio de cultura no cultivo de microalgas.

## 4. Material e métodos

### 4.1. Cepa e cultivo da microalga

O experimento foi realizado no Laboratório de Produção de Alimento Vivo LAPAVI, localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) onde foram avaliados os parâmetros de crescimento e produção de biomassa do dinoflagelado *Symbiodinium glynnii*. A cepa da microalga foi obtida do banco de cepas do mesmo laboratório cultivada em frascos tipo Erlenmeyer com água marinha (salinidade 30), utilizando o cultivo do tipo semi-contínuo com iluminação integral e irradiância de  $300 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

O efluente foi primeiramente tratado com cloro por 24 horas, em seguida o cloro foi removido e o mesmo foi filtrado. Logos após a filtração, o mesmo foi submetido a autoclave para maior esterilização e somente depois desse processo, estava pronto para ser utilizado. Os cultivos experimentais foram mantidos em uma sala com temperatura controlada de 22 °C. Os tratamentos utilizados foram: controle (meio de cultura f/2 Guillard), R25 (25% de água

residual e 75% de meio de cultura), R50 (50% de água residual e 50% de meio de cultura), R75 (75% de água residual e 25% de meio de cultura) e R100 (água residual). Após o período de cultivo, a biomassa das unidades experimentais foi centrifugada e armazenada em ultra freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 1:** Cultivos para o experimento.

**Fonte:** Arquivo pessoal.

#### *4.2. Processamento e secagem da biomassa.*

Após os cultivos, as biomassas dos diferentes tratamentos foram imediatamente centrifugadas (a  $3.000 \times g$  por 6 min) e posteriormente secas em um liofilizador em alto vácuo ( $150 \times 10^{-3}$  mbar) e baixas temperaturas  $-50 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 48 horas (OLIVEIRA et al.,2020)

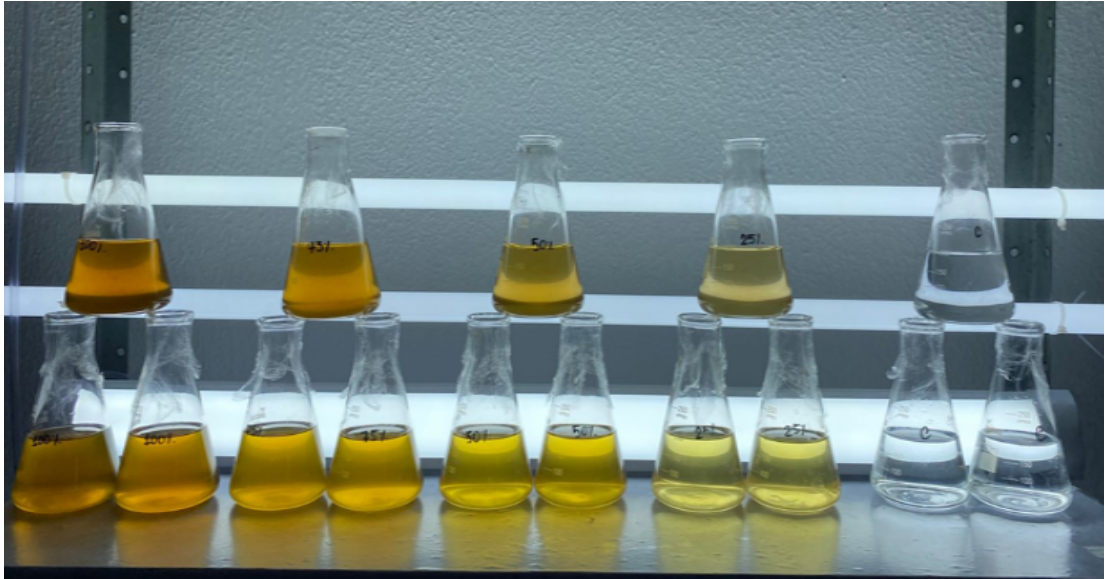


**Figura 2:** Exemplo de centrífuga utilizada.

**Fonte:** ProLab

#### *4.3. Análise de proteínas e lipídios*

Alíquotas de aproximadamente 200 mg da biomassa seca de cada tratamento foram submetidas a digestão, destilação e titulação por meio do método Kjeldahl (MA; ZUAZAGA, 1942) adaptado para microescala, para determinação do nitrogênio total. Para conversão do teor de nitrogênio para proteínas, foi utilizado o fator de conversão Kjeldahl ( $F = 6,38$ ), sendo o resultado expresso em percentual de proteína total (%).



**Figura 3:** Experimento sendo montado.

**Fonte:** Arquivo Pessoal.

#### *4.4 Análise de pigmentos*

Para a determinação de clorofila e carotenóides totais, alíquotas de aproximadamente 100 mg foram dissolvidas em acetona (90%) seguido de um posterior armazenamento (a 5 °C por 24 h) para completa extração dos pigmentos fotossintéticos. A quantificação foi realizada utilizando um espectrofotômetro nos comprimentos de onda 480, 647 e 664 nm, de acordo com as seguintes equações (Jeffrey e Humphrey, 1975):

$$Ca = 11,93 \times A_{664} - 1,93 \times A_{647} \quad (1)$$

Onde “Ca” são os valores de clorofila, e  $A_{664}$  e  $A_{647}$  as absorvâncias de 664 e 647nm, respectivamente.

$$Ct = A_{480} - 0,0012 \times Ca \times 0,0047 \times Cb \quad (2)$$

Onde “Ct” representa a concentração de carotenoides totais e  $A_{480}$  a absorvância de 480 nm. Todas as concentrações de pigmentos foram normalizadas como  $\text{mg g}^{-1}$  de biomassa seca.

#### 4.5 Atividade antioxidante

Para a avaliação do potencial antioxidante de extratos da biomassa de *Symbiodinium glynnii* foi utilizado o método DPPH. Os extratos foram realizados utilizando 200 mg de biomassa seca dissolvidos em 2 mL de acetona (90%). As amostras foram extraídas em um sonicador (40 kHz) seguido de uma agitação por 1 hora, e em seguida as amostras foram centrifugadas, para obter o sobrenadante em fase líquida (Dantas et al., 2019). Uma alíquota de 20  $\mu$ L dos extratos foi misturada com 90  $\mu$ M de uma solução de 1, 1- diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) até obter um volume final de 1 mL. Uma curva de calibração foi realizada utilizando os valores da solução de DPPH lida em uma absorbância de 515 nm.

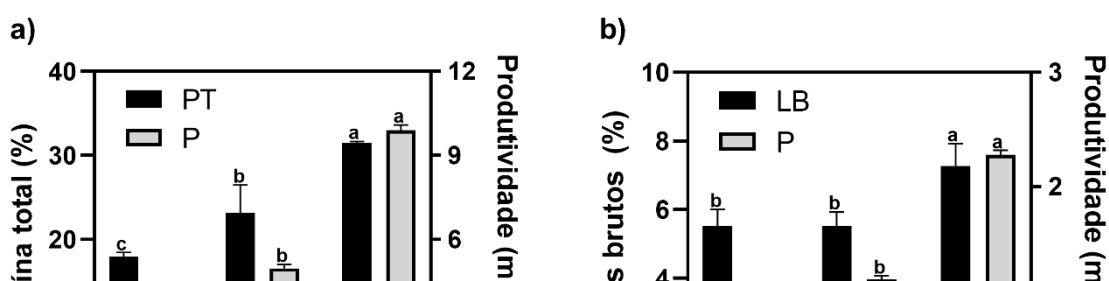
#### 4.6. Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Cochran). Atendendo a estas premissas, foram submetidos a uma Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste de comparação de médias de Tukey, quando necessário, para comparação de médias entre os resultados obtidos, com nível de significância ( $P < 0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas através do software estatístico ASSISTAT 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016). Todas as análises foram realizadas conforme Zar (2010).

### 5. Resultados e Discussão

Para o resultado de lipídios brutos e proteínas totais, foram considerados apenas os tratamentos de 50, 75 e 100% pois tiveram os melhores resultados de crescimento e além disso, possuíam biomassa suficiente para realizar a análise.

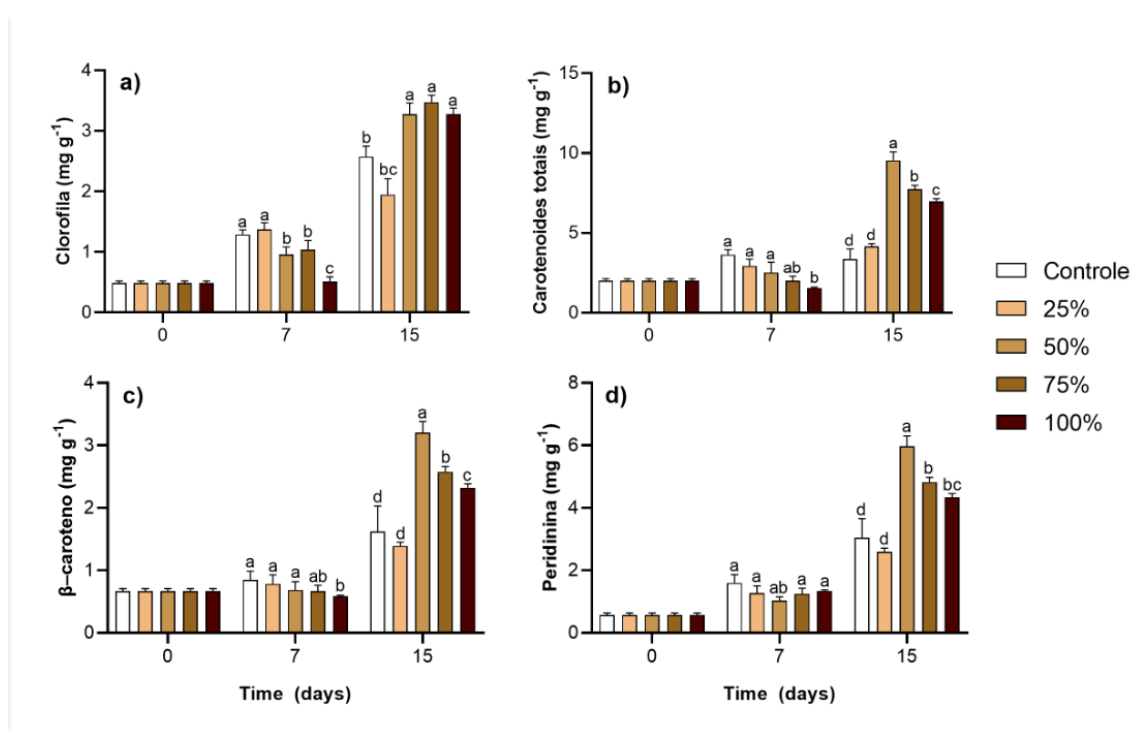
Para proteína total houve maior produtividade no tratamento 100%, e menor produtividade no tratamento 50%, em virtude do menor teor de proteína total no tratamento 50% em comparação com o 100%. Já no gráfico de lipídios brutos, foram iguais nos tratamentos de 50% e 75%, e com relação à produtividade, houve maior produtividade no tratamento 100% e nos tratamentos 50% e 75% tiveram a mesma produtividade (Figura 4).



**Figura 4.** Composição bioquímica da biomassa do dinoflagelado *Symbiodinium glynnii* cultivado sob diferentes níveis de águas residuais da aquicultura. Onde: (a) índices de proteína total e (b) índices de lipídios brutos. PT – Proteína total, LB – lipídios brutos e P – produtividade de proteína e lipídios.

Para os resultados de pigmentos, foram considerados todos os tratamentos (controle, 25, 50, 75 e 100%). No gráfico de clorofila, foi observado que em 15 dias, os tratamentos de 50%, 75% e 100% não obtiveram diferença significativa em relação aos demais tratamentos, apresentando maiores níveis de clorofila em comparação com o controle e com o tratamento 25%. Para o gráfico de carotenóides totais, em 15 dias o tratamento de 50% obteve resultado melhor comparado com os outros tratamentos.

Já para  $\beta$ -caroteno, em 15 dias o tratamento de 50% também obteve maior  $\beta$ -caroteno comparado com outros tratamentos. No gráfico de peridina, em 15 dias o tratamento de 50% também obteve maior peridina comparado com os outros tratamentos. Pode-se considerar então que, na análise de pigmentos, o tratamento de 50% foi o que obteve maior produção de pigmentos (Figura 5).



**Figura 5.** Gráfico de análise de pigmentos do dinoflagelado *Symbiodinium glynnii* cultivado sob diferentes níveis de inclusão de águas residuais da aquicultura ao meio de cultura. Letras iguais

não apresentam diferença significativa, já letras diferentes apresentam diferença significativa.

No estudo de Ansari et al. (2019), foi observado que as águas residuais da aquicultura têm bastante potencial para ser usada como fonte de nutrientes para o cultivo de microalgas. Neste estudo, relatou-se que o efluente utilizado ainda pode ser reaproveitado para a produção de biomassa de microalgas, que podem ser potencialmente usadas como fonte de proteína, carboidrato e lipídio.

De acordo com Dourou et al. (2020), sabe-se que para um crescimento bom dos organismos cultivados e sustentável na aquicultura, os lipídios, proteínas, carboidratos e etc. é fundamental. Ele fala que, a partir disso, este estudo tornou importante esse tratamento visto que, esses nutrientes são essenciais e indispensáveis em cultivos na aquicultura.

No estudo de Ho et al. (2013), verificou-se que a taxa de crescimento em águas residuais foi mais elevada do que no meio de cultura utilizado. Essa pesquisa acaba provando o grande potencial de uso de águas residuais como um meio econômico para o cultivo de dinoflagelados e, conseqüentemente, na produção de biomassa.

Já no estudo de Huang et al. (2022), o mesmo relata que as águas residuais fornecem os nutrientes essenciais para o crescimento de microalgas, enquanto à água tratada pode ser reciclada para reduzir o custo do cultivo de microalgas. Portanto, vale a pena investir nessas águas residuais.

## **6. Considerações Finais**

Ao compreendermos melhor a biomassa do *Symbiodinium glynnii*, pode-se obter ideias cruciais para o desenvolvimento de estratégias. Como a biomassa é rica em nutrientes e pigmentos importantes, é interessante aprofundar esse estudo para a implementação de biotecnologias, como compostos de potencial farmacêutico, antimicrobiano e antitumoral.

## **7. Conclusão**

Pode-se concluir que, para os gráficos de proteínas e lipídeos, o tratamento de 100% foi o que obteve melhor resultado. Já para os gráficos de pigmentos, o melhor tratamento foi 75%.

## 8. Referências bibliográficas

ANSARI, F. A; SINGH, P; GULDHE, A; BUX, F. 2017. Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: Integrated biomass generation and nutrient remediation. *AlgalResearch*, 169-177.

BEEDESSEE, G. et al. Diversified secondary metabolite biosynthesis gene repertoire revealed in symbiotic dinoflagellates. *Scientific reports*, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2019.

CRAB, R.; AVNIMELECH, Y.; DEFOIRDT, T.; BOSSIER, P.; VERSTRAETE, W. 2007 Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production. *Aquaculture*, 356-357:351-356.

DALE, B. 2001. The Sedimentary Record of Dinoflagellate Cysts: Looking Back into the Future of Phytoplankton Blooms. *Scientia Marina*, 65(2): 257-272. Valenti, W. C. 2002. Aquicultura sustentável. In: Congresso de Zootecnia, 12o, Vila Real, Portugal, 2002, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais...p.111-118.

DEVI, M.P.; SUBHASH, G.V.; MOHAN, S.V. Heterotrophic cultivation of mixed microalgae for lipid accumulation and wastewater treatment during sequential growth and starvation phases: effect of nutrient supplementation. *Renew. Energ.* v. 43, p. 276–283, 2012.

DOUROU, M; DRITSAS, P; BAESHEN, M, N; ELAZZAZY, A; AL-FARGA, A; AGGELIS, G. High-added value products from microalgae and prospects of aquaculture wastewaters as microalgae growth media. *FEMS Microbiology Letters*, 367, 2020.

GAONA, C. A. P. Efeito da remoção de sólidos suspensos totais e desempenho zootécnico do camarão *litopenaeus vannamei* em sistema superintensivo com bioflocos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande do Sul. 2011.

GROBBELLAAR J.U. Algal nutrition: mineral nutrition, in: Richmond A. (Ed.), *Microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*. Blackweel Science, pp. 97- 115. 2004

HO, K. C; XU, S. J. L; WU, K. C; LEE, F. W. F. Effective growth of dinoflagellate *Prorocentrum minimum* by cultivating the cells using municipal wastewater as nutrient source. *Water Science & Technology*. 1100–1106. 2013

HUANG, K; ZHONG, S; WEN, S; LUO, C; LONG, T. Improving the efficiency of wastewater treatment and microalgae production for biofuels. ScienceDirect. Volume 178, March 2022, 106094

JEFFREY, S. W. Chloroplast pigment patterns in dinoflagellates. Journal of Phycology, v. 11, n. 4, p.374-384, 1975.

JIANG, Y.; CHEN, F. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalgae *Cryptocodinium cohnii*. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 77, n. 6, p.613-617, 2000.

LIM, A. S. Semi-continuous cultivation of the mixotrophic dinoflagellate *Gymnodinium smaydae*, a new promising microalga for omega-3 production. Algae, v. 35, n. 3, p. 277-292, 2020.

MA, T.; ZUAZAGA, G. Micro-Kjeldahl Determination of Nitrogen. A New Indicator and An Improved Rapid Method. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition, v. 14, n. 3, p. 280–282, 1942.

LUGO, A. Remediation of Aquaculture Wastewater Using the Microalga *Chlorella sorokiniana*. Water 2020, 12, 3144.

OLIVEIRA, C. Y. B. Effect of trace metals on growth performance and accumulation of lipids, proteins, and carbohydrates on the green microalga *Scenedesmus obliquus*. Aquaculture International, v. 28, n. 4, p. 1435-1444, 2020.

RODRÍGUEZ, J.G.; MIRÓN, A.S.; CAMACHO, F.G.; ROSALES, L.L.; CHISTI, Y.; GRIMA, E. Bioactives from microalgal dinoflagellates. Biotechnology Advances, v 30, p.1673–1684,2012.

SCHULZE, T. Assessment of a novel device for onsite integrative large-volume solid phase extraction of water samples to enable a comprehensive chemical and effect-based analysis. Science of the Total Environment, v. 581, p. 350-358, 2017.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. African Journal of Agricultural Research, v. 11, n. 39, p.

3733–3740, 29 set. 2016.

TACON, A. J. G.; CODY, J. J.; CONQUEST, L. D.; DIVAKARAN, S.; FORSTER, I.P.; DECAMP, O. E. Effect of culture system on the nutrition and growth performance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed different diets. *Aquaculture Nutrition*, 8: 121-131.2002

TAW, N., 2010. Biofloc Technology Expanding At White Shrimp Farms Biofloc Systems Deliver High Productivity With Sustainability. *Glob Aquaculture Advocate*. May/June, 2010.

TELES, C., V. Caracterização da biomassa das microalgas *Micractinium* sp. e *Chlamydomonas biconvexa*. Dissertação. Fevereiro/2016

WOJCIECHOWSKI, M.F., 2013. Towards a new classification of Leguminosae: incorporating non-Linnean phylogenetic nomenclature. *South African Journal of Botany* 89, 85–93.

ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. 5th Edition, Prentice-Hall/Pearson, Upper Saddle River, xiii, 944 p., 2010.

## **9. Dificuldades Encontradas**

Para a realização da análise de lipídios brutos e proteínas totais, o tratamento com 25% de adição de água residual ao meio de cultura não se conseguiu atingir o volume de biomassa necessário para realização das análises propostas no presente estudo, inviabilizando a determinação da composição centesimal referente à essa análise.