

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DIEGO DE OLIVEIRA CORRÊA

**CULTIVO SEMICONTÍNUO DE UMA MICROALGA DO GÊNERO *Scenedesmus*
EM FOTOBIORREATOR TUBULAR COMPACTO PARA PRODUÇÃO DE
BIODIESEL E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE CULTIVO**

CURITIBA

2013

DIEGO DE OLIVEIRA CORRÊA

**CULTIVO SEMICONTÍNUO DE UMA MICROALGA DO GÊNERO *Scenedesmus*
EM FOTOBIOREATOR TUBULAR COMPACTO PARA PRODUÇÃO DE
BIODIESEL E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE CULTIVO**

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas, Setor de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. André Bellin Mariano

Co-orientador: Prof. Dr. David Alexander Mitchell

CURITIBA

2013

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a meus familiares e amigos pelo apoio e estímulo durante a realização do curso, em especial a minha mãe pelo apoio incondicional, sem o qual não seria possível esta conquista.

À Beatriz, por toda amizade, companheirismo, dedicação, amor e paciência durante todo esse período.

Aos colegas de curso, que das mais diversas maneiras proporcionaram meu crescimento, sobretudo pessoal, ao longo dessa caminhada.

A todos os membros do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável pelo auxílio, intercâmbio de conhecimento e incentivo.

Ao meu orientador, Dr. André Bellin Mariano, pelos ensinamentos, orientação e amizade.

Ao meu co-orientador, Dr. David Alexander Mitchell, pela valiosa contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

Ao caríssimo amigo José Viriato Coelho Vargas, pelos inúmeros ensinamentos, por sua amizade e, sobretudo pela confiança depositada.

Por fim, para não cometer injustiças, agradeço a todos aqueles, que direta ou indiretamente fizeram parte desse processo e contribuíram para minha formação.

A todos, deixo meus agradecimentos e a promessa de empenho para que, cada vez mais, possa ser digno de sua amizade e admiração.

...nosso maior medo não é sermos incapazes. Nosso maior medo é de sermos poderosos além da medida. É nossa luz, não nossa escuridão o que mais nos amedronta. Ser pequeno não serve ao mundo, não há nada de sábio em se encolher para que as outras pessoas não se sintam inseguras ao seu redor, e à medida que deixamos nossa própria luz brilhar, inconscientemente damos permissão para as outras pessoas fazerem o mesmo...

Nelson Mandela

RESUMO

As microalgas são reconhecidas como uma alternativa promissora para a geração de biodiesel e substituição da utilização de combustíveis de origem fóssil, entretanto, a manutenção de cultivos em larga escala é um dos principais fatores limitantes para a produção de biodiesel derivado de microalgas. Na produção em larga escala, os cultivos podem ser realizados em sistemas abertos, como lagoas e tanques, ou ainda em sistemas fechados, como o fotobiorreator utilizado neste estudo. Para a determinação do potencial para produção de biomassa de microalgas do sistema, foram realizados dois experimentos independentes com uma microalga do gênero *Scenedesmus* em fotobiorreator tubular compacto com área de 10 m², volume operacional de 12 m³ e um total de 3,5 km de tubos transparentes. Tendo em vista que os cultivos foram realizados em ambiente externo, parâmetros como a luminosidade e temperatura não foram controlados. Os resultados mostraram que o fotobiorreator utilizado possui capacidade para a manutenção de cultivos de microalgas por longos períodos de tempo. O primeiro experimento realizado teve duração de 100 dias e apresentou produtividade igual a 0,0029 g.L⁻¹.dia⁻¹ de biomassa seca, enquanto o segundo experimento teve duração de 54 dias e apresentou produtividade diária de 0,0063 g.L⁻¹.dia⁻¹ de biomassa seca. Considerando uma área de produção igual a um hectare, os dados apontam para uma produtividade estimada superior a de algumas culturas tradicionalmente utilizadas na produção de óleo para geração de biodiesel, como a soja ou o girassol, por exemplo. O teor de óleo na biomassa da microalga utilizada foi de 13% (m/m, base seca). A realização desse estudo permitiu a compreensão dos processos envolvidos no cultivo de microalgas nos fotobiorreatores desenvolvidos pelo NPDEAS e contribuiu para a avaliação do seu real potencial de produção de biomassa, apontando novos caminhos e possibilidades a serem explorados.

Palavras-chave: Microalgas. Fotobiorreatores. Biodiesel.

ABSTRACT

Microalgae are recognized as a promising alternative for the biodiesel generation and replacing the use of fossil fuels, however, the maintenance of cultures on a large scale is one of the main limiting factors for the production of biodiesel from microalgae. In large scale production, cultivation may be performed in open systems such as ponds and tanks, or in closed systems, such as the photobioreactor that was used in this study. To determine the potential for microalgal biomass production in the system, two independent experiments were performed with a microalga of the genus *Scenedesmus* in a compact photobioreactor with an area of 10 m², an operating volume of 12 m³ and a total of 3.5 kilometers of transparent tubes. Considering that the cultures were performed in the open, parameters such as light and temperature could not be controlled. The results obtained showed that the photobioreactor used has the ability to maintain cultures of microalgae for a long period. The first experiment lasted 100 days and presented a volumetric productivity of 0.0029 g.L⁻¹.dia⁻¹ of dry biomass, while the second experiment lasted 54 days and presented a volumetric productivity of 0.0063 g.L⁻¹.dia⁻¹ of dry biomass. Considering a production area of one hectare, the productivity obtained was superior to that of some crops that are traditionally used in the production of oil for the generation of biodiesel, such as soybeans or sunflower, for example. The lipid content of the dry microalgal biomass was 13% (m/m). The present study allowed an understanding of the processes involved in the cultivation of microalgae at the photobioreactors developed by NPDEAS and contributed to the evaluation of its production, indicating new ways and possibilities to be explored.

Key words: Microalgae. Photobioreactor. Biodiesel.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – MACRONUTRIENTES E FUNÇÕES BIOLÓGICAS	17
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTIVO UTILIZADO	30
TABELA 3 – SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO FBR NO CULTIVO A	41
TABELA 4 – SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO FBR NO CULTIVO B	42
TABELA 5 – SEQUÊNCIA DE DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO A.....	44
TABELA 6 – SEQUÊNCIA DE DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO B.....	45
TABELA 7 – BIOMASSA OBTIDA NAS DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO A	54
TABELA 8 – BIOMASSA OBTIDA NAS DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO B	55
TABELA 9 – TEOR DE LIPÍDEOS PARA DIFERENTES MICROALGAS	58
TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS E PRODUTIVIDADE DOS CULTIVOS A e B...59	
TABELA 11 – PRODUTIVIDADE DOS CULTIVOS A e B (sem biofilme)	61
TABELA 12 – PRODUTIVIDADE DE CULTURAS TRADICIONAIS.....	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESQUEMA DE SISTEMA DE CULTIVO ABERTO: TANQUE	15
FIGURA 2 – SISTEMA DE CULTIVO FECHADO: FOTOBIOREATOR.....	16
FIGURA 3 –PROCESSOS DE CONVERSÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS..	18
FIGURA 4 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.....	19
FIGURA 5 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA SOBRE MICROALGAS E BIODIESEL.....	21
FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DE CULTIVO (Ano 2012)	24
FIGURA 7 – ESQUEMA DE DILUIÇÃO DO FOTOBIOREATOR	25
FIGURA 8 – MICROALGA DO GÊNERO <i>Scenedesmus</i> UTILIZADA (400x)	26
FIGURA 9 - FOTOBIOREATOR TUBULAR COMPACTO.....	27
FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DO FBR CARACTERIZANDO A MODULARIDADE DO SISTEMA	28
FIGURA 11 – FLUXOGRAMA PARA INOCULAÇÃO DO FOTOBIOREATOR	29
FIGURA 12 – CORRELAÇÃO ENTRE BIOMASSA SECA E DENSIDADE ÓPTICA	34
FIGURA 13 – CURVA DE CRESCIMENTO DA MICROALGA	39
FIGURA 14 – ESQUEMA, COM VISTA SUPERIOR DO REATOR, DESTACANDO A SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO NOS CULTIVO A e B.....	43
FIGURA 15 – VARIAÇÃO DA TEMPERATURA MEDIDA NOS CULTIVOS A e B ...	46
FIGURA 16 – CRESCIMENTO CELULAR DOS CULTIVOS A e B.....	48
FIGURA 17 – DENSIDADE ÓPTICA DOS CULTIVOS A e B	51
FIGURA 18 – VARIAÇÃO DO pH NOS CULTIVOS A e B	53
FIGURA 19 – BIOMASSA PROCESSADA PARA ARMAZENAGEM.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS

B_f – Massa seca da membrana mais o retido depois da filtração (g)

B_p – Biomassa total produzida (g)

B_s – Massa de biomassa seca (g)

C_m – Concentração média de biomassa (g.L^{-1})

FBR – Fotobiorreator

M_s – Massa da membrana seca (g)

NPDEAS – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável

P_a – Estimativa de produtividade anual de biomassa (Kg.ano^{-1})

P_d – Produtividade diária de biomassa (g.dia^{-1})

P_h – Estimativa da produtividade anual de biomassa por hectare ($\text{Kg.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$)

P_l – Produtividade volumétrica de biomassa ($\text{g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$)

P_{oh} – Estimativa da produtividade anual de óleo por hectare ($\text{L.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$)

t – Tempo de cultivo (dias)

UFPR – Universidade Federal do Paraná

V_p – Volume processado (L)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 MICROALGAS	13
1.2 CULTIVO DE MICROALGAS	14
1.2.1 Sistemas abertos.....	14
1.2.2 Sistemas fechados	16
1.3 NECESSIDADES NUTRICIONAIS.....	17
1.4 UTILIZAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS MICROALGAS	18
1.4.1 Biodiesel.....	18
1.4.2 Hidrogênio	20
1.5 ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA	20
2 JUSTIFICATIVA	22
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 SISTEMA DE CULTIVO SEMICONTÍNUO	24
4.2 MICROALGA UTILIZADA	25
4.3 FOTOBIOREATOR TUBULAR COMPACTO	27
4.4 PRODUÇÃO DE INÓCULO	29
4.5 MEIO DE CULTURA	30
4.6 CONDIÇÕES DE CULTIVO	31
4.7 OPERAÇÃO DO FOTOBIOREATOR	31
4.8 DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO E PARÂMETROS DE CULTIVO	31

4.8.1	Concentração celular	32
4.8.2	Densidade óptica.....	32
4.8.3	Variação de pH.....	32
4.8.4	Biomassa seca	33
4.9	QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDEOS TOTAIS	35
4.10	PRODUTIVIDADE DO SISTEMA.....	36
4.10.1	Concentração média da biomassa	36
4.10.2	Produtividade diária de biomassa	36
4.10.3	Produtividade volumétrica	36
4.10.4	Estimativa da produtividade anual de biomassa	37
4.10.5	Estimativa da Produtividade anual de biomassa por hectare	37
4.10.6	Estimativa da Produtividade anual de óleo por hectare	37
4.11	TRATAMENTO ESTATÍSTICO DAS AMOSTRAS.....	38
4.12	LIMPEZA DO FOTBIORREATOR.....	38
4.13	FLOCULAÇÃO E FILTRAÇÃO.....	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	CULTIVO DA MICROALGA EM LABORATÓRIO	39
5.2	DURAÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM FOTOBIORREATOR	40
5.3	INOCULAÇÃO E OPERAÇÃO DO FOTOBIORREATOR	41
5.4	VARIAÇÃO DA TEMPERATURA.....	45
5.5	CRESCIMENTO CELULAR	47
5.6	DENSIDADE ÓPTICA	50
5.7	VARIAÇÃO DO pH DURANTE OS CULTIVOS.....	52
5.8	BIOMASSA PRODUZIDA	54
5.9	TEOR DE LIPÍDEOS TOTAIS	57
5.10	PRODUTIVIDADE DO SISTEMA.....	59

6. CONCLUSÃO	63
7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	65
REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 MICROALGAS

Microalga é um termo utilizado para designar organismos fotossintetizantes unicelulares ou coloniais presentes em ambientes aquáticos ou úmidos, e que de modo geral, não constituem um grupo monofilético, sendo que essa nomenclatura define um grupo artificial e heterogêneo.

Segundo Lourenço (2006), as algas são seres muito diversos, fotossintetizantes em sua maioria e que apresentam estrutura vegetativa conhecida como talo, cuja diferenciação celular é pequena ou nula. O termo alga é completamente desprovido de valor taxonômico, pois designa organismos muito distintos entre si quanto sua origem. Dentre as algas, diferenciam-se as macroalgas (algas com dimensões macroscópicas) e as microalgas (algas de dimensão microscópicas).

Um dos maiores grupos de algas conhecido é o das algas verdes, que, juntamente com as plantas terrestres, constituem o sub-reino Viridiplantae. A estrutura vegetativa das algas verdes apresenta uma variedade muito grande de níveis de organização, desde indivíduos unicelulares, flagelados ou não, até talos morfologicamente complexos (REVIERS, 2006).

Coletivamente, as algas constituem um grupo de extrema importância ecológica, uma vez que, em sistemas aquáticos, são as maiores responsáveis pela produção primária, contribuindo dessa maneira para a manutenção dos ciclos biogeoquímicos e sustentação da cadeia trófica.

1.2 CULTIVO DE MICROALGAS

Os cultivos de microalgas constituem-se em ferramentas fundamentais para a elucidação de inúmeros processos ecológicos, ontogenéticos, fisiológicos, bioquímicos e comportamentais, dentre outros. Além de sua utilização para obtenção de informação sobre microalgas, também apresentam muitas outras aplicações com importância econômica, como por exemplo, a geração de biomassa para alimentação animal e humana e a produção de substâncias de interesse industrial (LOURENÇO, 2006).

Uma característica importante dos sistemas de cultivo de microalgas é sua versatilidade, tornando possível relacionar aplicações diferentes no mesmo processo, como o tratamento de águas residuais, a produção de suplementos alimentícios, rações, fármacos e produtos químicos. Outra característica atrativa do uso de microalgas, em comparação ao uso de outros micro-organismos, é sua capacidade fotossintética de converter energia solar em biomassa com composição química atraente do ponto de vista energético (DE LA NOUE; DE PAUW, 1988).

Cultivos de microalgas podem ser realizados em sistemas abertos, tais como lagos ou lagoas, ou ainda em sistemas fechados como fotobiorreatores. Um fotobiorreator é um reator em que organismos fotossintetizantes são cultivados ou utilizados para realizar uma reação biológica (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

1.2.1 Sistemas abertos

Os sistemas para cultivo de microalgas mais empregados atualmente são do tipo tanque de corrida, que consistem de um lago artificial de baixa profundidade, com o objetivo de oportunizar maior área de exposição à luz solar, e de um sistema de pás, que é responsável pela agitação e homogeneização do meio em cultivo.

Apesar de serem amplamente difundidos na produção em larga escala, o modelo de lagoas apresenta algumas deficiências, como o baixo controle sobre as

condições de cultivo, a possibilidade de contaminação com agentes externos e, sobretudo, a necessidade de uma grande área para sua construção e operação.

A figura 1 ilustra, em linhas gerais, o aspecto de um sistema de cultivo aberto para produção de biomassa de microalgas.

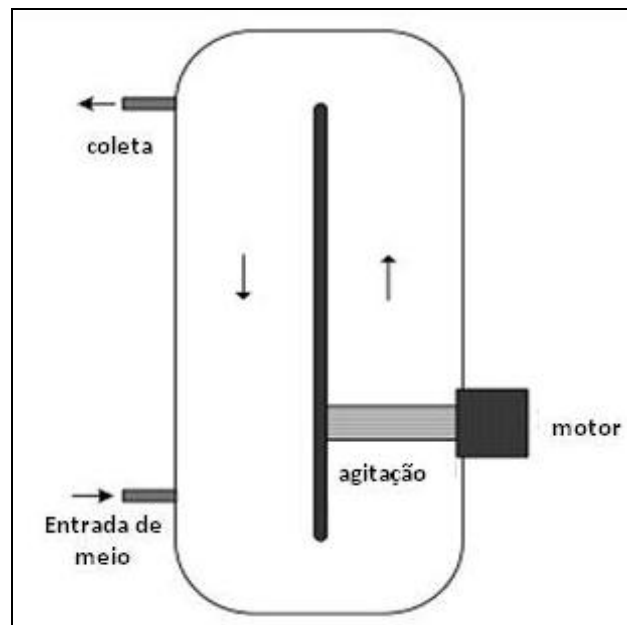


FIGURA 1 – ESQUEMA DE SISTEMA DE CULTIVO ABERTO: TANQUE
FONTE: Adaptado de Suali e Sarbatly (2012)

Na figura acima, é possível destacar a presença do conjunto de pás responsável pela homogeneização do cultivo, bem como pelas trocas gasosas, o sistema de coleta de biomassa produzida, que pode ser processada por floculação, centrifugação, flotação, entre outras. É possível ainda observar o sistema de entrada de meio e carregamento do tanque, bem como a presença de um motor responsável pela movimentação do conjunto de pás. Em linhas gerais, esses são os componentes de um sistema aberto para cultivo de microalgas.

1.2.2 Sistemas fechados

Diante das características dos cultivos, a utilização de fotobiorreatores para o cultivo de microalgas possui algumas vantagens, dentre as quais é possível destacar o maior controle das condições, uma vez que o sistema é fechado e não há contato com o ambiente externo, reduzindo a probabilidade de contaminação por organismos diferentes dos cultivados.

A utilização de fotobiorreatores possui ainda a vantagem de ocupar uma área muito menor do que a dos sistemas abertos e, portanto, não há competição pelo uso de áreas agriculturáveis que poderiam ser utilizadas para produção de alimentos. Fotobiorreatores possuem ainda elevada eficiência na produção de biomassa quando utilizada injeção de CO_2 no meio, potencializando o crescimento das microalgas (SUALI; SARBATLY, 2012). A figura 2 esquematiza um fotobiorreator (FBR).

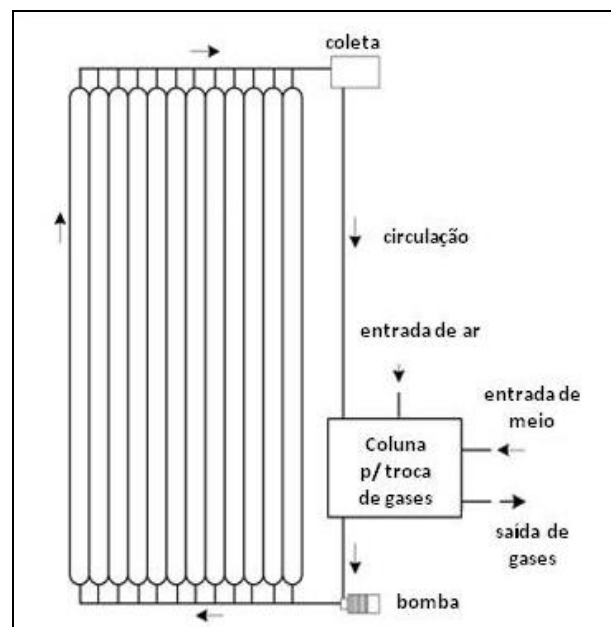


FIGURA 2 – SISTEMA DE CULTIVO FECHADO: FOTOBIORREATOR

FONTE: Adaptado de Suali e Sarbatly (2012)

Os elementos principais de um FBR fechado consistem em um coletor solar (tubos transparentes) por onde a luz entra e as algas podem absorvê-la, uma coluna

para troca de gases, onde ocorre a fixação de CO₂ e liberação de O₂, um sistema de bombas para circulação de meio, um sistema de aeração e sistema para entrada de meio e coleta da produção.

1.3 NECESSIDADES NUTRICIONAIS

Microalgas apresentam necessidades nutricionais específicas. Apesar de haver muitos elementos químicos presentes nos ambientes aquáticos, sua distribuição não é homogênea, dessa forma, enquanto alguns componentes ocorrem em elevadas concentrações, outros podem apresentar pouca disponibilidade.

Enquanto nos ambientes naturais a concentração dos nutrientes não é uniforme, nos meios de cultivo estes são oferecidos de forma controlada, sendo que os macronutrientes correspondem a cerca de 80% da massa dos seus componentes. A tabela 1 relaciona os principais macronutrientes dos meios de cultivos para microalgas e suas funções biológicas.

TABELA 1 – MACRONUTRIENTES E FUNÇÕES BIOLÓGICAS

Componente	Função biológica
Carbono	Componente estrutural de macromoléculas
Nitrogênio	Componente estrutural de macromoléculas
Fósforo	Realização de processos de troca energética (ATP)
Potássio	Regulação osmótica
Magnésio	Constituinte da molécula de clorofila
Enxofre	Estruturação de proteínas, como cisteína e metionina
Ferro	Participação da via de biossíntese da clorofila

FONTE: Adaptado de Lourenço (2006)

1.4 UTILIZAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS MICROALGAS

Microalgas utilizam a luz solar para realizar a conversão de dióxido de carbono em biocombustíveis potenciais, alimentos, rações ou ainda bioativos de valor elevado (CHISTI, 2007).

A figura 3 ilustra os vários processos possíveis para conversão da biomassa de microalgas existentes.

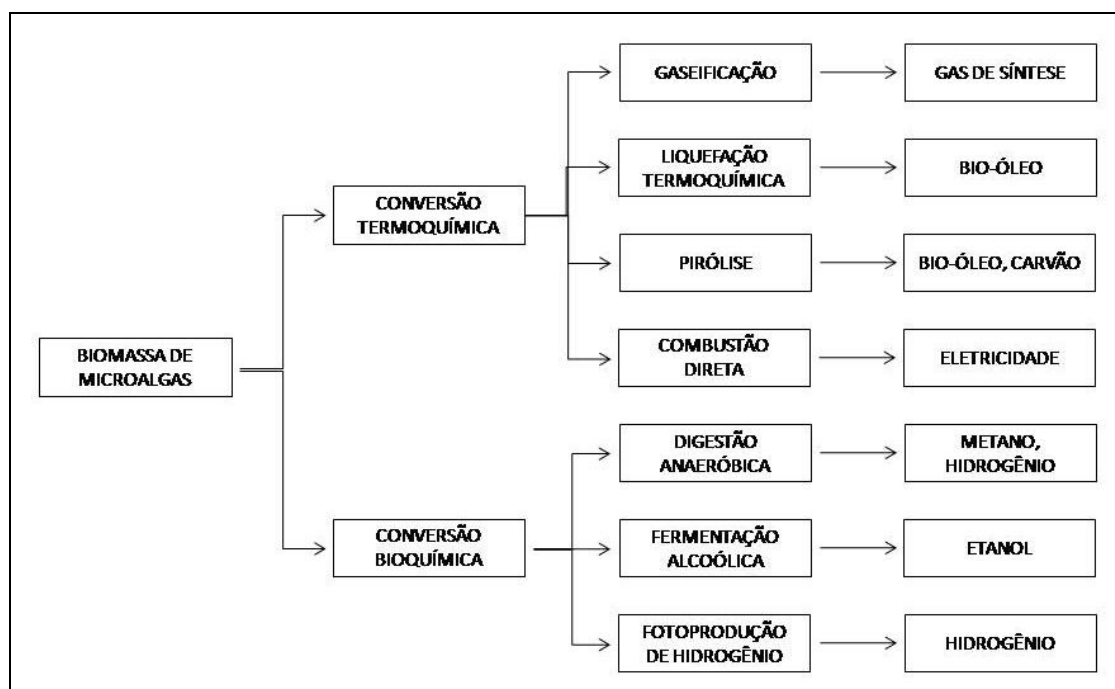


FIGURA 3 –PROCESSOS DE CONVERSÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS

FONTE: Adaptada de Brennan e Owende (2010)

1.4.1 Biodiesel

O aumento da produção de oleaginosas para geração de biocombustíveis em terras aráveis pode ter consequências para o abastecimento global de alimentos. Em contraste, a produção de biodiesel de microalgas é amplamente considerada como uma das formas mais eficientes para a produção de biocombustíveis. Os óleos

vegetais são uma fonte renovável e potencialmente inesgotável para a produção de biodiesel, por outro lado, seu uso pode agravar o panorama da fome em países em desenvolvimento, uma vez que pode haver competição pela utilização de áreas disponíveis para a produção de alimentos (DEMIRBAS, 2011).

As microalgas são a única matriz para produção de biodiesel capaz de substituir a utilização de combustíveis fósseis e, ao contrário de outras oleaginosas, possuem rápido crescimento, além de apresentarem elevado teor de lipídeos, comumente apresentando teores de 20 a 50%. Possuem, ainda, rápido crescimento: microalgas comumente duplicam sua biomassa num período de 24 h, embora durante a fase exponencial de crescimento esse tempo pode ser de até 3,5 h (CHISTI, 2007).

Os principais fatores envolvendo a produção de biodiesel utilizando microalgas englobam o cultivo, a coleta, a extração dos lipídeos e sua transesterificação (LEE *et al.*, 2010). A figura 4 ilustra a reação de transesterificação do óleo extraído da biomassa das microalgas e consequente produção de biodiesel.

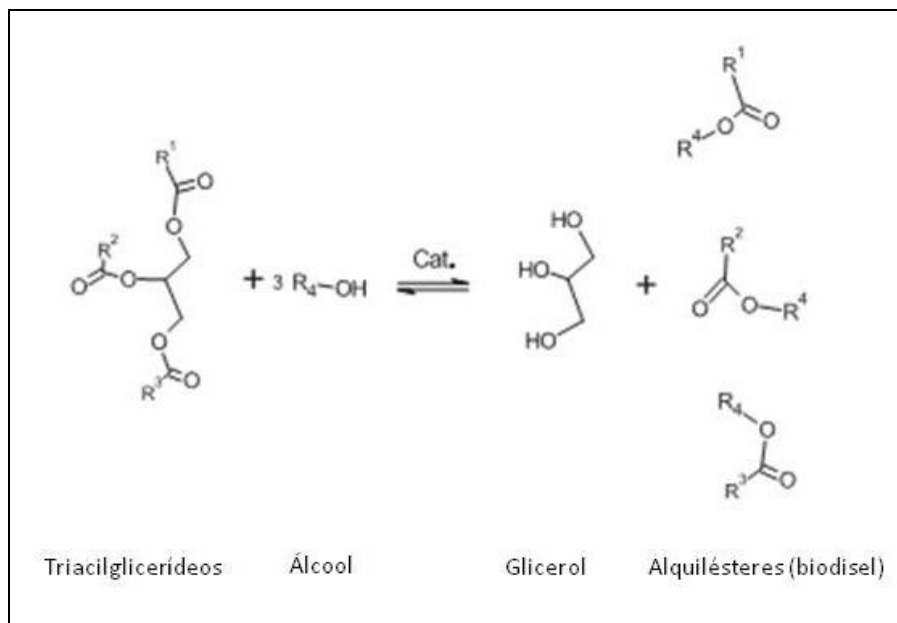


FIGURA 4 – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

FONTE: Adaptado de Lôbo, Ferreira e Cruz (2009)

O biodiesel é uma mistura de alquilésteres de cadeia linear, obtida da transesterificação dos triglicerídeos de óleos e gorduras com alcoóis de cadeia curta, esta reação tem o glicerol como coproduto (LÔBO; FERREIRA; CRUZ., 2009).

1.4.2 Hidrogênio

A produção de hidrogênio via cultivo de microalgas parece ser mais uma alternativa promissora na utilização desses micro-organismos, uma vez que se trata de um combustível limpo, já que da sua utilização não resulta dióxido de carbono ou outro gás com efeitos danosos ao meio ambiente ou á saúde humana.

De acordo com Melis e Melnicki (2006), a geração de hidrogênio ocorre em algas verdes unicelulares, onde a reação é catalisada pela enzima [Fe]-hidrogenase no processo conhecido como fotólise direta da água, através do qual a molécula da água é convertida em H₂ e O₂ durante o processo de fotossíntese, como ilustra a equação 1.



1.5 ANÁLISE CIENCIOMÉTRICA

A análise cienciométrica da utilização de microalgas para geração de bioenergia possui grande potencial de gerar informações valiosas sobre a evolução da pesquisa de microalgas e energia, como no caso de novas tecnologias emergentes e processos como nanociência e nanotecnologia (KONUR, 2011).

Realizando breve busca utilizando o banco de dados “ISI Web of Knowledge”, da Thomson Reuters (versão 5.9), e empregando os termos *microalgae* AND *biodiesel*, foi possível observar o aumento do número de trabalhos publicados a partir de 2007, conforme pode ser visto na figura 5.

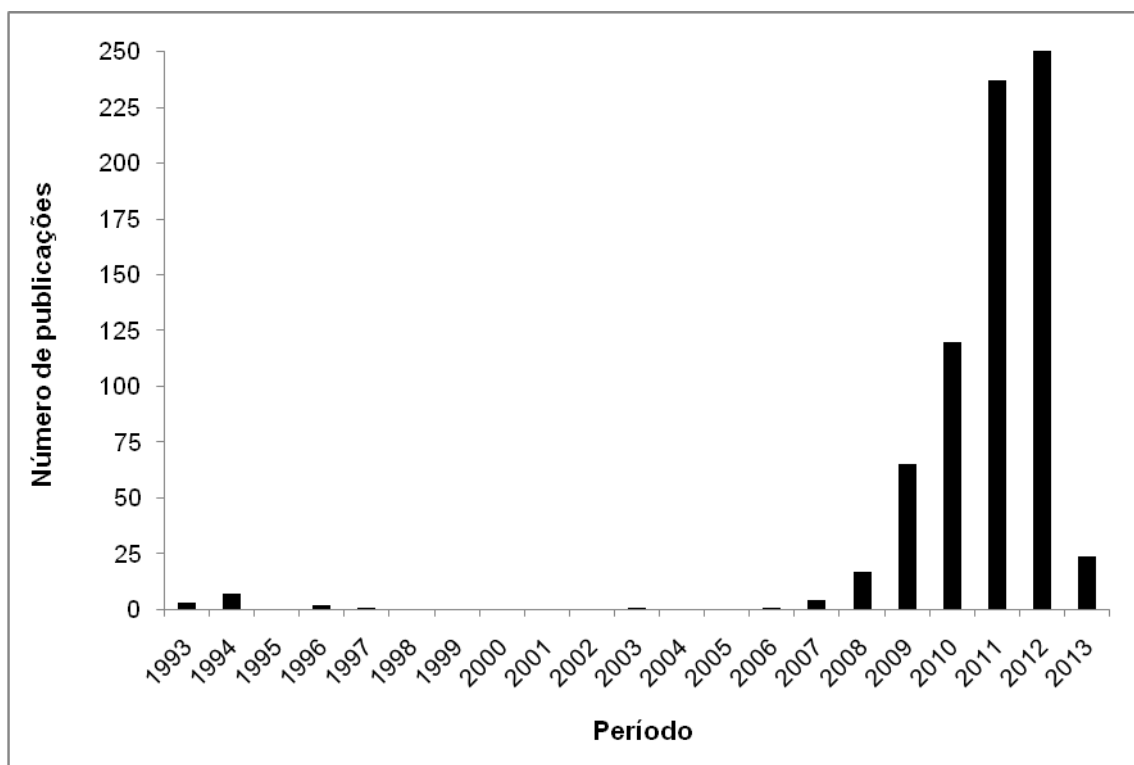


FIGURA 5 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA SOBRE MICROALGAS E BIODIESEL

FONTE: O autor

A figura 5 apresenta trabalhos da literatura científica publicados entre 1993 e 2013. Apesar de apresentar registros desde 1993, foi a partir de 2007 que houve crescimento abrupto na produção científica anual.

Cabe ressaltar que apesar do aumento dos esforços científicos na utilização de microalgas para geração de biodiesel, apenas quatro artigos foram relatados para o Brasil, o que denota a necessidade de investimento contínuo para o desenvolvimento dessa área promissora no país.

O Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), da Universidade Federal do Paraná, é um dos grupos de pesquisa brasileiros que se dedica a estudar o potencial das microalgas na geração de energia renovável, bem como à produção de conhecimento científico relacionado com esta área de estudo.

2 JUSTIFICATIVA

A sustentabilidade é um princípio fundamental na gestão dos recursos naturais, e que envolve a eficiência operacional nas considerações sobre impactos ambientais e socioeconômicos. É cada vez mais evidente que o uso continuado de recursos energéticos de combustíveis fósseis é insustentável devido às emissões de gases causadores do efeito estufa associados a sua utilização. Por essa razão, existem iniciativas de pesquisas destinadas ao desenvolvimento de alternativas renováveis (SINGH; SHARMA, 2012).

Uma vez que a matriz energética baseada na exploração de recursos de origem fóssil apresenta-se saturada, é necessário o desenvolvimento de novas fontes energéticas. Nesse cenário, as microalgas se apresentam como alternativa promissora na geração de biocombustíveis, na forma de biodiesel ou ainda hidrogênio.

Inserido nesse contexto, e baseado no quadro promissor de utilização das microalgas, faz-se necessária a investigação científica e o desenvolvimento do seu cultivo para produção de biodiesel. Dessa forma, o presente trabalho pretende contribuir com a geração de novos dados acerca dos cultivos realizados nos fotobiorreatores do NPDEAS.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Tendo em vista o potencial de utilização das microalgas na produção de biocombustíveis, o presente trabalho tem como objetivo principal a realização de cultivos em modo semicontínuo de uma espécie de microalga do gênero *Scenedesmus* em fotobiorreator tubular compacto (FBR) para produção de biodiesel e a determinação da biomassa seca produzida.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral estabelecido, foram determinados os seguintes objetivos específicos a serem alcançados durante a realização do trabalho:

- Produzir inóculo para a operação em fotobiorreator tubular compacto em escala industrial;
- Definir a curva de crescimento da microalga utilizada;
- Quantificar a produção de biomassa obtida durante os cultivos;
- Determinar o teor de lipídeos totais da microalga em estudo;
- Determinar a produtividade do fotobiorreator quanto ao seu real potencial na geração de biomassa para produção de biodiesel.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Com a finalidade de realizar a comparação da produtividade obtida, foram realizados dois cultivos independentes com a mesma microalga, utilizando fotobiorreator em ambiente externo.

Para fins de melhor compreensão das metodologias empregadas, bem como dos resultados obtidos nesse projeto, a partir desse momento o primeiro cultivo será denominado cultivo A, enquanto que o segundo cultivo será denominado cultivo B.

A figura 6 ilustra o fluxograma das etapas relativas à produção de inóculo e realização dos cultivos A e B em fotobiorreator.

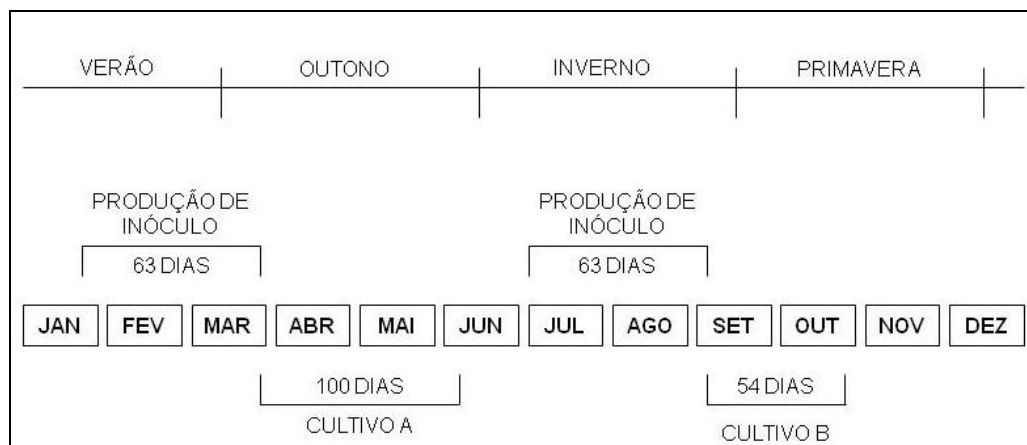


FIGURA 6 – FLUXOGRAMA DAS ETAPAS DE CULTIVO (Ano 2012)

FONTE: O autor

4.1 SISTEMA DE CULTIVO SEMICONTÍNUO

Ambos os cultivos em fotobiorreator tubular compacto foram realizados de modo semicontínuo, o que significa dizer que nos pontos de máximo crescimento foram realizadas diluições do sistema, com retirada de uma alíquota para floculação

e acréscimo de meio fresco, objetivando a manutenção dos cultivos pelo maior tempo possível.

A figura 7 apresenta um breve esquema do processo de diluição do fotobiorreator. Como pode ser observado no esquema, as diluições realizadas consistem na retirada de uma alíquota do cultivo para floculação e obtenção de biomassa seca e posterior acréscimo de meio de cultivo e água iguais ao volume retirado.

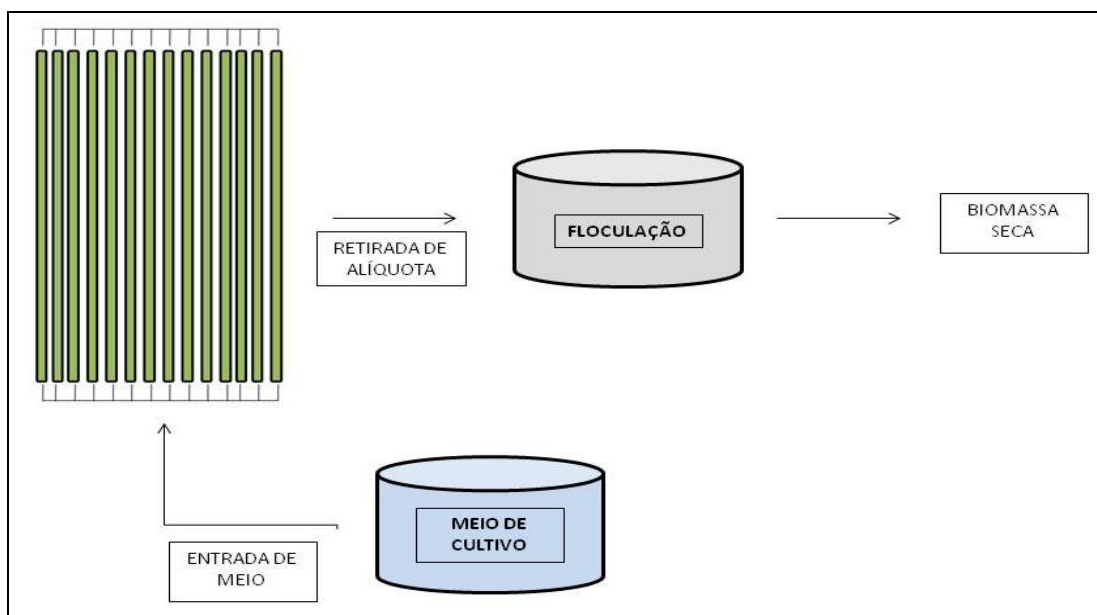


FIGURA 7 – ESQUEMA DE DILUIÇÃO DO FOTOBIORREATOR

FONTE: O autor

4.2 MICROALGA UTILIZADA

Para a realização desse projeto foi utilizada uma espécie de microalga do gênero *Scenedesmus* (ainda não identificada), que foi isolada da rede de abastecimento de água de Curitiba (FIGURA 8). Portanto, apresenta como vantagem a pré-adaptação às condições de cultivo em ambiente externo, aliada ao baixo risco de geração de impacto ambiental em caso de vazamento, uma vez que se trata de uma espécie natural da região.

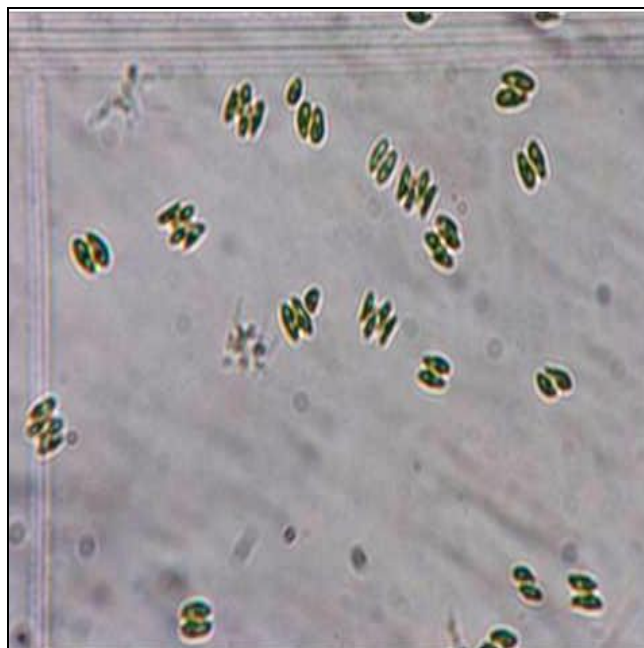


FIGURA 8 – MICROALGA DO GÊNERO *Scenedesmus* UTILIZADA (400x)

FONTE: O autor (2012)

Após a construção do fotobiorreator, os tubos foram cheios somente com água da rede de abastecimento para a realização de testes de estanqueidade. Passadas algumas semanas, foi constatado o aparecimento de um líquido espesso e com coloração esverdeada nas torneiras de coleta do sistema. Foram realizadas coletas desse material para análise sob microscopia óptica, onde foi constatada a presença da microalga em questão.

Scenedesmus é o mais comum e cosmopolita dos gêneros de algas verdes. Seus indivíduos são extremamente comuns em qualquer coleta de água que se faça, seja ela oligo, meso ou eutrófica. Além disso, são dos primeiros a colonizar um ambiente (BICUDO; MENEZES, 2005). A característica taxonômica distintiva do grupo é a ocorrência de colônias planas, formadas em geral por 2, 4, 8 ou até 16 células dispostas lateralmente.

4.3 FOTOBIORREATOR TUBULAR COMPACTO

O sistema utilizado no cultivo da microalga consiste de um fotobiorreator tubular compacto que ocupa área de 10 m² com volume operacional de aproximadamente 12 m³ e está instalado na área externa do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS). O FBR possui 3,5 km de tubos de PVC transparentes dispostos de forma alternada com objetivo de maximizar a utilização de espaço.

Além da estrutura em si, o fotobiorreator é composto por duas bombas de ¼ de HP de potência que operam em paralelo, sendo responsáveis pela circulação do líquido no interior do sistema, e por uma linha de ar comprimido que fornece ar atmosférico ao fotobiorreator.

A figura 9 apresenta o aspecto do fotobiorreator utilizado nos experimentos.



FIGURA 9 - FOTOBIORREATOR TUBULAR COMPACTO

FONTE: NPDEAS (2012)

Cabe ressaltar que o sistema é modular, o que permite sua utilização com diferentes volumes de operação. Esse fator é importante, sobretudo, no processo de inoculação do fotobiorreator.

As figura 10 detalham a independência dos ramais e os registros para operação modular, respectivamente, com a presença de alguns inoculados e outros ainda sem cultivo.

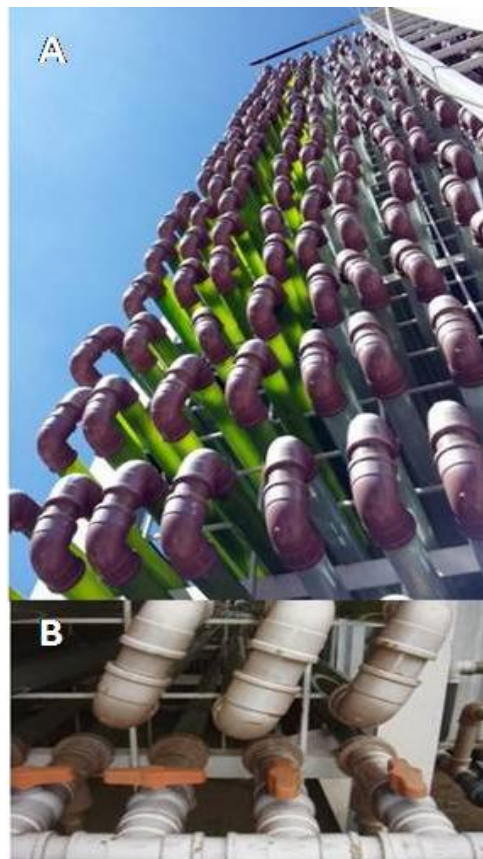


FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DO FBR CARACTERIZANDO A MODULARIDADE DO SISTEMA

FONTE: NPDEAS (2012)

Detalhe de ramais inoculados (A); Registros responsáveis pelo fechamento dos ramais em utilização.

4.4 PRODUÇÃO DE INÓCULO

O volume de operação do fotobiorreator é de aproximadamente 12 m³ de líquido. Sendo assim, foi necessário o crescimento de cultivo prévio que serviu de inóculo para os experimentos principais. A produção de inóculo consiste de três etapas preliminares conforme descrito a seguir:

- Crescimento de cultura em frascos Erlenmeyer de 2 L;
- Cultivo em galões de 20 L;
- Crescimento em tanque retangular com volume de 2 m³, para posterior inoculação no fotobiorreator.

O volume produzido em cada etapa descrita anteriormente serviu como inóculo para a etapa posterior. A figura 11 apresenta um fluxograma para a inoculação do fotobiorreator.



FIGURA 11 – FLUXOGRAMA PARA INOCULAÇÃO DO FOTOBIORREATOR

FONTE: O autor

Considerando desde a produção em escala laboratorial até o início da inoculação do fotobiorreator, o processo tem duração total de aproximadamente 63 dias.

4.5 MEIO DE CULTURA

Todas as etapas de cultivo foram desenvolvidas utilizando o meio de cultura CHU modificado (CHU, 1942), que é composto pelos macro e micronutrientes necessários para o crescimento das microalgas.

A tabela 2 apresenta os reagentes e a massa necessários para compor um litro meio de cultura.

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTIVO UTILIZADO

Reagente	Fórmula	Concentração (g.L ⁻¹)
Nitrato de sódio	NaNO ₃	0,25
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,025
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075
Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄	0,075
Fosfato de potássio monobásico	KH ₂ PO ₄	0,175
Cloreto de sódio	NaCl	0,025
Triplex III EDTA	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	0,05
Hidróxido de potássio	KOH	0,031
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,005
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,01142
Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82x10 ⁻⁵
Cloreto de manganês hepta-hidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44x10 ⁻⁵
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7,1x10 ⁻⁶
Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57x10 ⁻⁵
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	4,9x10 ⁻⁶

FONTE: O autor (2012)

A modificação mencionada diz respeito à substituição de óxido de molibdênio por molibdato de sódio, por se tratar de um reagente químico com menor custo e possuir as mesmas características da formulação original.

4.6 CONDIÇÕES DE CULTIVO

Uma vez que os cultivos foram realizados em ambiente externo, condições como a luminosidade, fotoperíodo e temperatura não foram controladas, cabendo apenas o seu monitoramento.

Os dados referentes à temperatura foram obtidos do banco de dados disponível no endereço eletrônico da SOMAR meteorologia.

4.7 OPERAÇÃO DO FOTOBIOREATOR

A partir do término da inoculação do fotobiorreator, quando o sistema apresentava máximo volume operacional (12m^3), foram realizadas diariamente manobras de ressuspensão das células em cultivo, que consistiram no fechamento de todos os ramais em operação, exceto um.

Após aproximadamente 3 min e aparente homogeneização do meio, era aberto o ramal imediatamente ao lado do primeiro e fechado o anterior. Após novo período de 3 min, era aberto o próximo ramal e fechado o anterior. Esse processo era então repetido sequencialmente até que o conteúdo de cada ramal tivesse sido ressuspensos.

Ao término do processo, todos os ramais eram abertos e o sistema passava a operar normalmente. Tal procedimento foi realizado para garantir a correta homogeneização das células em cultivo.

4.8 DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO E PARÂMETROS DE CULTIVO

A determinação do crescimento das microalgas foi realizada diariamente utilizando-se os parâmetros de concentração celular, densidade óptica medida por

espectrofotometria, variação de pH, temperatura e biomassa seca. Tais dados foram utilizados para confecção das curvas de crescimento e escolha dos pontos em que ocorreram as diluições do sistema. Todos os dados coletados e analisados foram registrados em planilhas especificamente elaboradas para este fim. Todos os parâmetros analisados foram coletados em triplicata.

4.8.1 Concentração celular

As concentrações celulares foram determinadas através da contagem direta em microscópio óptico da marca Bioval em aumento de 400x. Para tanto, as amostras dos cultivos foram coletadas e preparadas em câmaras de Neubauer, com as quais foram realizadas contagens em triplicata conforme metodologia descrita por Lourenço (2006).

4.8.2 Densidade óptica

Para o acompanhamento dos cultivos, bem como para determinação da densidade óptica e posterior correlação da biomassa seca obtida, foram realizadas leituras das amostras coletadas em espectrofotômetro da marca PerkinElmer modelo Lambda 25, utilizando 1,5 mL de cultivo em cubetas de acrílico e comprimento de onda de 540 nm, por se tratar de uma faixa não absorvida pela clorofila.

4.8.3 Variação de pH

Assim como as demais análises, a determinação do pH dos cultivos foi realizada diariamente, utilizando pHmetro da marca Tecnal, modelo TE-058.

4.8.4 Biomassa seca

A metodologia para determinação de biomassa seca de microalgas consiste na filtragem de amostras com volume definido e quantificação da biomassa retida na membrana de filtragem. Para tanto, foram utilizadas membranas de microfibras de vidro conforme descrição a seguir:

- Foram secadas três membranas em estufa por 24 h para retirada de umidade, após a secagem, as membranas foram mantidas em dessecador com sílica;
- As membranas secas foram pesadas em balança analítica da marca Gehaka modelo AG200, para obtenção do seu peso seco;
- Três amostras de cultivo com 25 mL foram filtradas utilizando as membranas secas e bomba a vácuo;
- As membranas foram secas novamente com a biomassa filtrada em estufa por 24 h e mantidas em dessecador com sílica para retirada da umidade;
- Após a secagem, as membranas foram pesadas para quantificar a biomassa retida.

Para determinação da biomassa seca, foi realizada subtração dos valores pesados para a biomassa filtrada ao final e para as membranas secas no início da metodologia, conforme a equação 2.

$$B_s = B_f - M_s \quad (2)$$

onde:

B_s = massa de biomassa seca;

B_f = massa seca da membrana mais o retido depois da filtração;

M_s = massa da membrana seca.

Para o cultivo A, a determinação da biomassa seca foi possível através da correlação estabelecida entre densidade óptica do cultivo em 540 nm e biomassa medida em diferentes amostras. Para tanto, foram utilizadas cinco alíquotas de cultivo com diferentes concentrações.

Para cada alíquota, foram estabelecidos os valores de densidade óptica, concentração celular e biomassa seca. Depois de realizadas as medições, foi estabelecida a correlação entre os dados de densidade óptica e a biomassa seca com os valores referentes a cada alíquota.

A figura 12 apresenta a correlação entre biomassa seca e densidade óptica em 540 nm.

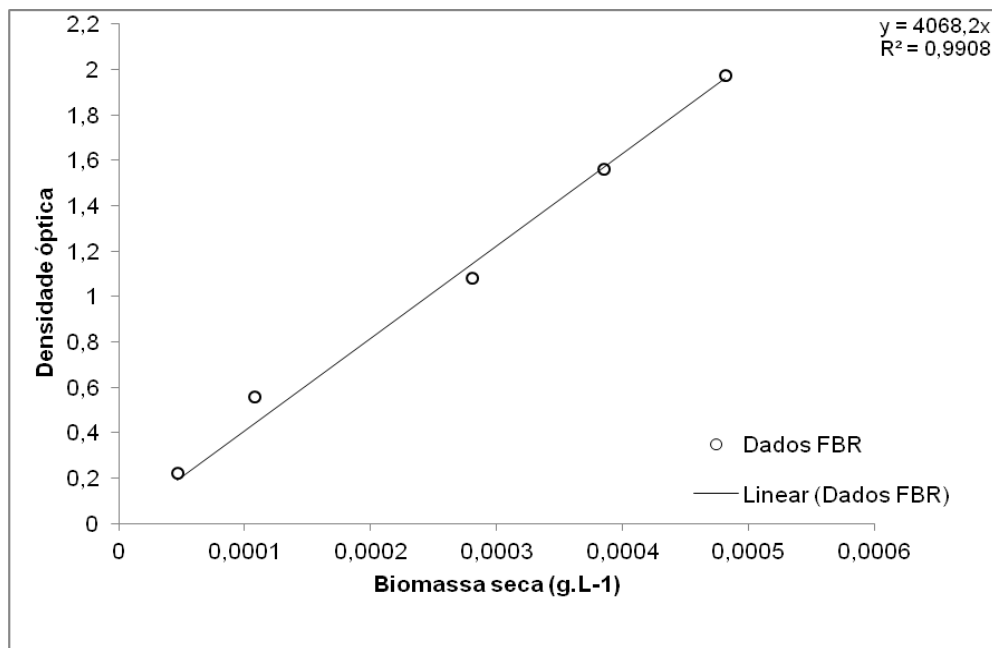


FIGURA 12 – CORRELAÇÃO ENTRE BIOMASSA SECA E DENSIDADE ÓPTICA

FONTE: O autor

O valor de R^2 obtido é indicativo de que os dados estão fortemente relacionados, sendo assim, para o cultivo A, optou-se por estimar a produção de biomassa das microalgas a partir dos valores medidos de densidade óptica.

Para o cultivo B, a determinação da biomassa foi realizada em cada uma das diluições do sistema através da filtragem de alíquotas, conforme metodologia descrita anteriormente.

4.9 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDEOS TOTAIS

A fim de determinar o potencial da microalga utilizada na produção de biodiesel, foi realizada a quantificação do teor de lipídeos totais presentes na biomassa seca produzida durante um dos pontos de máximo crescimento do cultivo A. Para tanto, foi empregada a metodologia de Bligh-Dyer, adaptada de Soares (2010), que consiste as seguintes etapas:

- Pesar 50 mg de biomassa seca em tubo de polipropileno de 12 mL (tubo 1);
- Adicionar 3 mL de uma mistura clorofórmio:metanol (2:1, v:v) e 10 µL de uma solução de BHT (1% em metanol);
- Tratar com ultrassom por três ciclos de 15 min cada;
- Incubar os tubos embrulhados em papel alumínio por 24 horas a 4°C;
- Tratar com ultrassom novamente por três ciclos de 15 min cada;
- Centrifugar a 5000 rpm por 5 min a 5°C, recuperar o sobrenadante com pipeta Pasteur e reservar em outro tubo (tubo 2). Adicionar 1,5 mL da mistura clorofórmio:metanol (2:1, v:v) à biomassa sedimentada e centrifugar novamente nas mesmas condições. Recuperar o sobrenadante e transferir ao tubo 2;
- Adicionar 2 mL de água destilada e 1 mL de clorofórmio ao tubo 2, agitar e centrifugar novamente. Recuperar a fase inferior com pipeta Pasteur e reservar em outro tubo (tubo 3);
- Lavar a fase aquosa (tubo 2) com 1 mL de clorofórmio, agitar e centrifugar novamente, recuperado a fase inferior e transferindo para o tubo 3;
- Em uma campana de extração, secar a fase clorofórmio:lipídeo (tubo 3) com nitrogênio gasoso;
- Para determinar o teor de lipídeos totais, usar método gravimétrico.

4.10 PRODUTIVIDADE DO SISTEMA

Para fins de determinar a produtividade de biomassa seca e óleo do sistema de cultivo, foram realizadas estimativas de produção em escalas comparáveis aos cultivos usualmente utilizados para produção de biodiesel.

4.10.1 Concentração média da biomassa

A concentração média da biomassa produzida (g.L^{-1}) foi calculada de acordo com a equação 3.

$$C_m = B_p / V_p \quad (3)$$

onde:

C_m = concentração média da biomassa;

B_p = biomassa total produzida;

V_p = volume processado.

4.10.2 Produtividade diária de biomassa

A produtividade de biomassa (g.dia^{-1}) foi calculada com base na equação 4.

$$P_d = B_p / t \quad (4)$$

onde:

P_d = produtividade diária de biomassa;

B_p = biomassa total produzida;

t = tempo de cultivo.

4.10.3 Produtividade volumétrica

A produtividade volumétrica de biomassa de microalgas ($\text{g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) foi calculada com base na equação 5.

$$P_l = C_m / t \quad (5)$$

onde:

P_l = produtividade volumétrica de biomassa;

C_m = concentração média da biomassa;

t = tempo de cultivo.

4.10.4 Estimativa da produtividade anual de biomassa

Baseado nos dados registrados durante a realização dos cultivos, foram estimados os valores de produtividade anual de biomassa (Kg.ano^{-1}) conforme equação 6:

$$P_a = (P_d / 1000) \cdot 365 \quad (6)$$

onde:

P_a = estimativa de produtividade anual de biomassa;

P_d = produtividade diária de biomassa;

365 = período igual a um ano.

4.10.5 Estimativa da Produtividade anual de biomassa por hectare

Para a definição da estimativa de produção de biomassa anual por hectare cultivado ($\text{Kg.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$) foi utilizando a equação 7:

$$P_h = P_a \cdot 1000 \quad (7)$$

onde:

P_h = estimativa da produtividade anual de biomassa por hectare;

P_a = estimativa produtividade anual de biomassa;

1000 = área equivalente a um hectare.

4.10.6 Estimativa da Produtividade anual de óleo por hectare

A estimativa da produção anual de óleo de microalgas por hectare de cultivo ($\text{L.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$) foi baseada na equação 8:

$$P_{oh} = (P_h \cdot 0,13) \cdot 0,93 \quad (8)$$

onde:

P_{oh} = estimativa da produtividade anual de óleo por hectare;

P_h = estimativa da produtividade anual de biomassa por hectare;

0,93 = densidade do óleo de soja, usado como base de comparação.

4.11 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DAS AMOSTRAS

Os valores relativos ao crescimento dos cultivos são representados pelas médias dos resultados das amostras individuais de cada experimento, calculadas através da realização de leituras em triplicata.

Os desvios padrões foram multiplicados por dois, para que o nível de significância dos erros abrangesse 95% dos valores das amostras, conforme metodologia descrita por Rodrigues (2008).

4.12 LIMPEZA DO FOTBIORREATOR

Após a formação do biofilme nas paredes internas dos tubos, foram realizadas limpezas no sistema, com a finalidade de recuperar a biomassa de microalgas aderida à tubulação. O processo de limpeza é mecânico, dispensa o uso de reagentes químicos e consiste da utilização de projéteis de espuma que são impulsionados por ar comprimido pelo interior do sistema, ocasionando a remoção do biofilme através da ação abrasiva.

4.13 FLOCULAÇÃO E FILTRAÇÃO

A biomassa obtida durante a realização dos cultivos foi floculada utilizando sulfato ferroso hepta-hidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) na concentração de $0,2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ como agente floculante, filtrada para retirada de umidade e armazenada em freezer para posterior extração de lipídeos e conversão em biodiesel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CULTIVO DA MICROALGA EM LABORATÓRIO

Após a colonização do fotobiorreator e a constatação da existência dessas microalgas nos ramais do sistema, as algas foram coletadas e mantidas em laboratório para determinar seu crescimento. O cultivo foi realizado com volume de 1,8 L, em frascos Erlenmeyer, meio CHU e regime de fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro. A figura 13 apresenta o crescimento da microalga em laboratório.

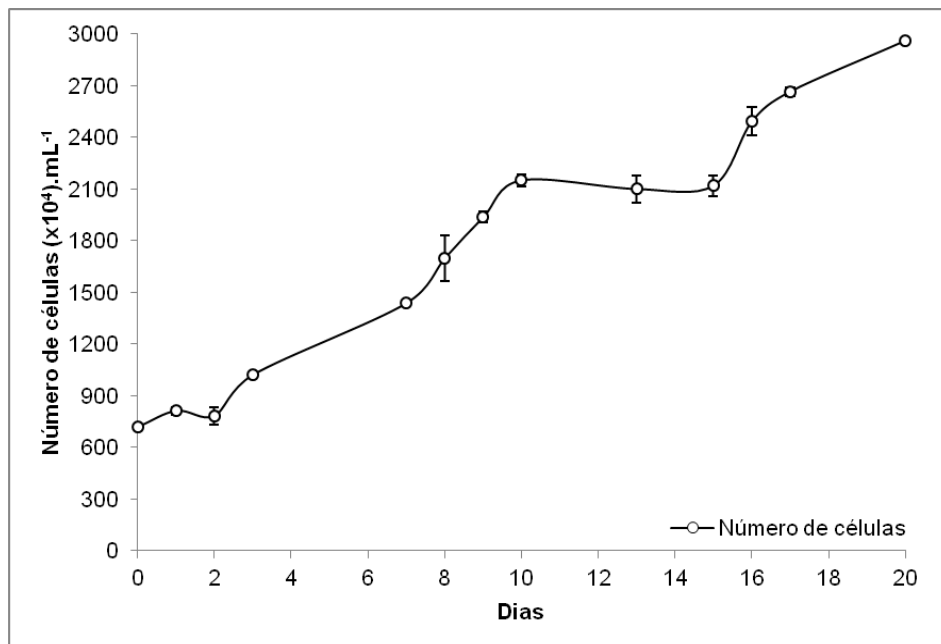


FIGURA 13 – CURVA DE CRESCIMENTO DA MICROALGA

FONTE: O autor

A figura acima não representa a curva padrão de crescimento de micro-organismos, uma vez que não é possível identificar as fases de adaptação (Lag), de crescimento exponencial (Log) ou ainda a fase estacionária. Tal diferença pode ser

explicada pelas condições de cultivo, que incluíram a ocorrência de fotoperíodo de 12 h.

5.2 DURAÇÃO DOS EXPERIMENTOS EM FOTOBIORREATOR

Desde a inoculação do fotobiorreator até o término do cultivo A decorreram 100 dias, período correspondente a 28 de março de 2012 a 06 de julho de 2012. Nesse período, foram realizadas seis diluições do sistema, que consistiram na retirada de 3 m³ de cultivo e acréscimo de meio de cultura fresco referente ao mesmo volume retirado.

Portanto, o cultivo manteve-se viável por um longo período de tempo e a operação de modo semicontínuo mostrou ser uma metodologia aplicável ao sistema de produção de biomassa em escala industrial utilizando fotobiorreatores.

Durante o período de cultivo, foi possível observar a formação de biofilme com incrustação de algas nas paredes internas dos tubos, o que resulta na redução da quantidade de luz que penetra no cultivo, acarretando assim prejuízos às células em crescimento.

Ao final dos 100 dias de cultivo foi realizada a retirada do volume total do reator e limpeza dos tubos para remoção do biofilme formado, ambos os materiais foram processados por floculação e tiveram sua biomassa filtrada e armazenada.

O cultivo B teve duração de 54 dias, período compreendido entre os dias 05 de setembro e 29 de outubro de 2012. Durante esse período foram realizadas 5 diluições do sistema, com a retirada de 1 m³ em cada uma delas e acréscimo de meio de cultura fresco e água em quantidade suficiente para 1 m³.

Apesar de possuir duração total inferior ao primeiro experimento, o segundo cultivo também demonstrou a capacidade do sistema em manter viável um cultivo por período de tempo prolongado.

Aos moldes do primeiro cultivo, também houve formação de biofilme nas paredes internas dos tubos do sistema, fator que foi preponderante para a finalização do experimento. Com o término do cultivo, o volume total do reator foi processado por floculação e a biomassa resultante foi armazenada em freezer.

O volume do biofilme foi utilizado para a realização de outros experimentos não relacionados ao presente projeto.

5.3 INOCULAÇÃO E OPERAÇÃO DO FOTOBIORREATOR

Uma vez que o sistema de cultivo empregado possui uma configuração modular, o que permite a operação com diferentes volumes, a inoculação do fotobiorreator se deu de modo sequencial em ambos os cultivos.

Para o cultivo A, inicialmente foi inoculado apenas um dos quatorze ramais, localizado na extremidade interna do reator, totalizando volume operacional de 2,7 m³, já considerando o volume da caixa d'água.

Após um período de 8 dias, foi realizada a abertura de um segundo ramal, localizado na extremidade oposta para maximizar a incidência de luz solar, alcançando 3,4 m³ de cultivo.

No 12º dia após a inoculação, foi realizada a abertura de outros 8 ramais, totalizando 10 ramais em operação, com volume aproximado de 9,2 m³. A plenitude do sistema foi alcançada no 15º dia de cultivo, quando foram abertos os outros 4 ramais restantes, totalizando volume operacional de 12 m³.

A tabela 3 apresenta a sequência cronológica de inoculação do fotobiorreator durante a realização do cultivo A.

TABELA 3 – SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO FBR NO CULTIVO A

Período (dias)	Operação	Ramais abertos	Volume Operacional (m³)
0	inoculação	1	2,7
8	abertura de 1 ramal	2	3,4
12	abertura de 8 ramais	10	9,2
15	abertura de 4 ramais	14	12

FONTE: O autor

Para o cultivo B, a metodologia de inoculação sequencial foi mantida, embora a sequência cronológica tenha sido diferente.

Inicialmente foi inoculado apenas o ramal da extremidade voltada para o prédio, totalizando os mesmos 2,7 m³ do início do cultivo A. Entretanto, a abertura de um segundo ramal ocorreu no segundo dia de cultivo, totalizando assim 3,4 m³ de volume operacional.

No oitavo dia de cultivo foi realizada a abertura de mais dois ramais, alcançando a inoculação de quatro ramais e volume operacional de aproximadamente 5 m³.

A abertura de outros quatro ramais foi realizada no 12º dia de cultivo e o volume operacional máximo do sistema foi alcançada no 19º dia após o início, com a abertura de todos os ramais do sistema e consequente operação com 12 m³ de cultivo.

A tabela 4 ilustra a sequência cronológica de inoculação do fotobiorreator durante a realização do cultivo B.

TABELA 4 – SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO DO FBR NO CULTIVO B

Período (dias)	Operação	Ramais abertos	Volume Operacional (m ³)
0	inoculação	1	2,7
2	abertura de 1 ramal	2	3,4
8	abertura de 2 ramais	4	5
12	abertura de 4 ramais	8	9,2
19	abertura de 6 ramais	14	12

FONTE: O autor

A figura 14 apresenta o esquema de abertura de ramais e inoculação do fotobiorreator durante os cultivos A e B, numa vista superior do reator. Os valores representados ao lado de cada imagem correspondem ao volume operacional nos períodos de inoculação. As diferenças entre os processos de inoculação entre os dois cultivos deveu-se à tentativa de aprimorar a metodologia empregada.

Apesar de a sequência de abertura de ramais durante a inoculação dos cultivos A e B ser ligeiramente distinta, em linhas gerais, a metodologia empregada manteve-se a mesma.

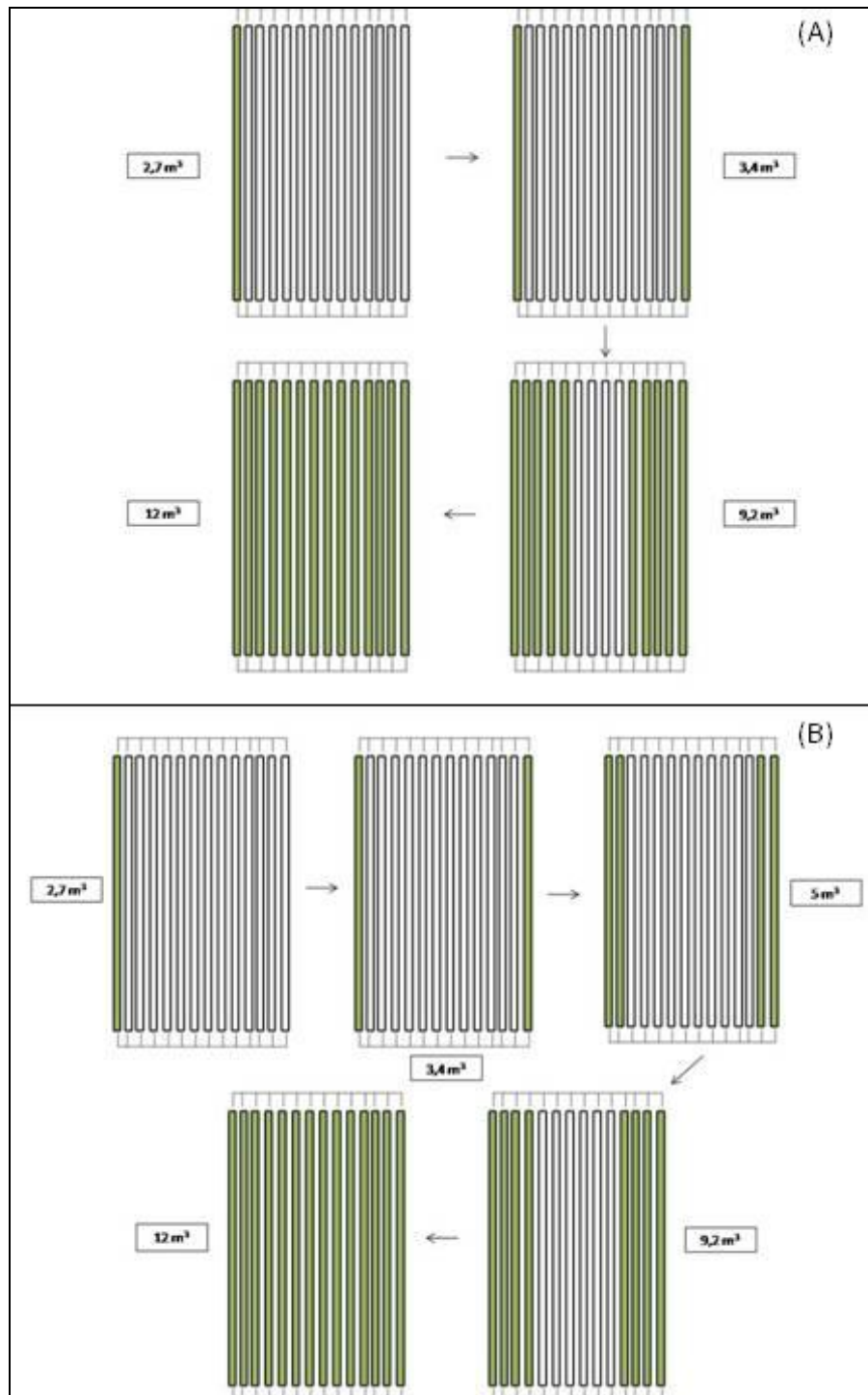


FIGURA 14 – ESQUEMA, COM VISTA SUPERIOR DO REATOR, DESTACANDO A SEQUÊNCIA DE INOCULAÇÃO NOS CULTIVO A e B.

FONTE: O autor

Após os períodos de inoculação, passaram a ser realizadas as diluições do sistema. No 15º dia do cultivo A, o reator passou a operar com volume máximo e a partir desse momento foram realizadas sucessivas diluições do sistema, a fim de obter a biomassa produzida.

A tabela 5 apresenta a sequência de diluição do fotobiorreator no cultivo A e o respectivo volume retirado em cada uma delas.

TABELA 5 – SEQUÊNCIA DE DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO A

Período (dias)	Operação	Volume (m³)
22	diluição	3
30	diluição	3
44	diluição	3
57	diluição	3
83	diluição	3
93	diluição	3
100	término	12

FONTE: O autor

A partir do 19º dia do cultivo B, o reator passou a operar com volume máximo e a partir desse momento foram realizadas sucessivas diluições do sistema, a fim de obter a biomassa produzida.

A tabela 6 apresenta a sequência de diluição do fotobiorreator no cultivo B e o respectivo volume retirado em cada uma delas.

TABELA 6 – SEQUÊNCIA DE DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO B

Período (dias)	Operação	Volume (m ³)
33	diluição	1
40	diluição	1
42	diluição	1
47	diluição	1
50	diluição	1
54	término	12

FONTE: O autor

Mesmo diferindo entre os cultivos A e B, a metodologia utilizada nas diluições manteve a característica de funcionamento do reator em modo semicontínuo, permitindo a retirada de alíquotas de cultivo e posterior reposição de meio de cultura fresco.

5.4 VARIAÇÃO DA TEMPERATURA

Uma vez que o fotobiorreator está construído no pátio do NPDEAS, os cultivos ocorreram em condições de ambiente externo, sendo assim, sofreram variações de temperatura decorrentes das modificações ambientais dos respectivos períodos.

A figura 15 apresenta os valores de temperatura ambiente mínima e máxima registrados durante a realização dos cultivos A e B.

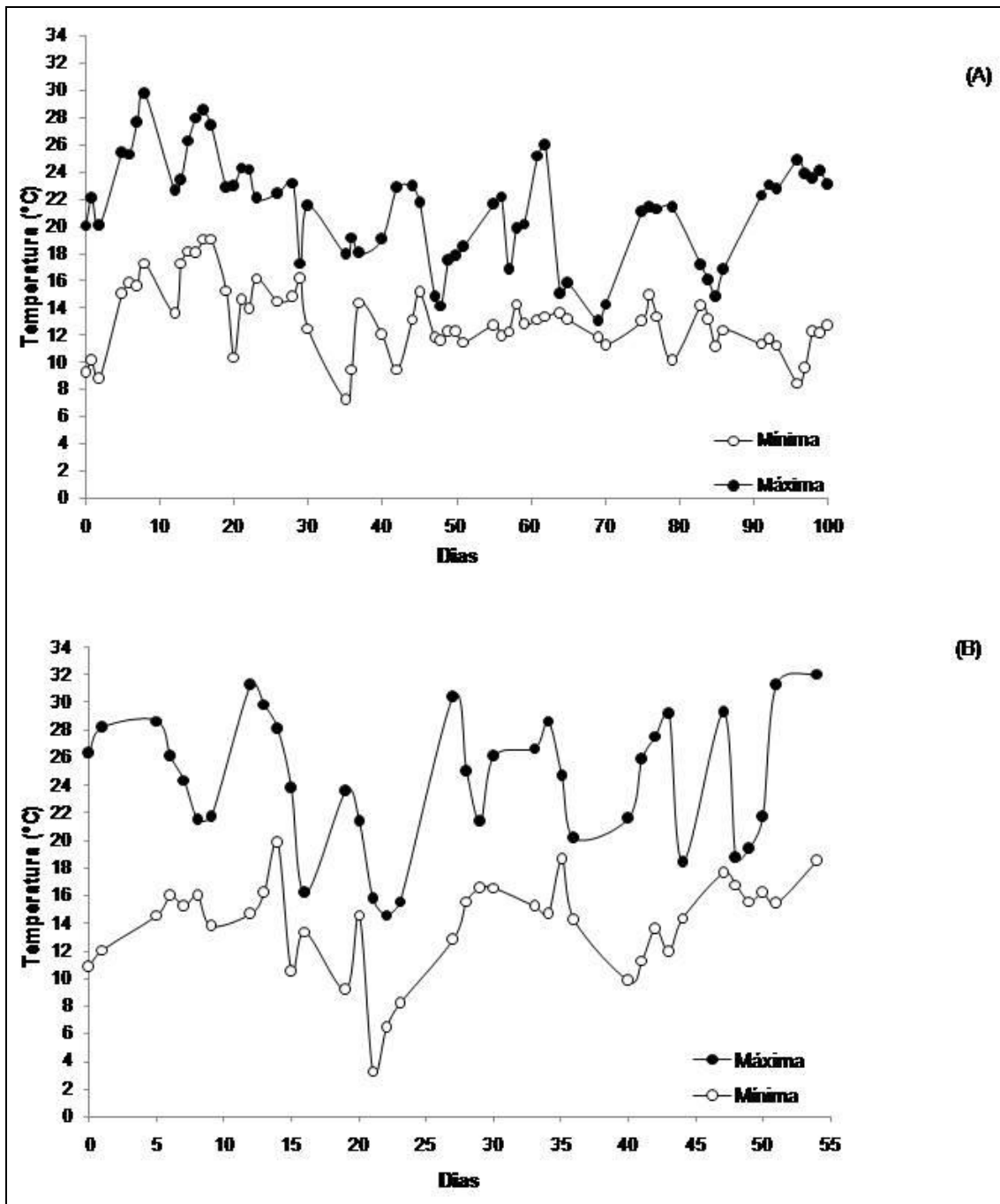


FIGURA 15 – VARIAÇÃO DA TEMPERATURA REGISTRADA NOS CULTIVOS A e B

FONTE: O autor

Durante o período de duração do cultivo A, o sistema experimentou variações significativas de temperatura, com amplitude térmica de até 22,5 °C, sendo que a temperatura mínima registrada foi de 7,2 °C e a máxima de 29,7 °C.

Mesmo o cultivo B tendo sido realizado num período do ano com temperaturas mais elevadas, o sistema também experimentou significativas variações de temperatura.

A amplitude térmica para o período foi de 29,9 °C, com a mínima registrada de 3,3 °C e a máxima de 33,2 °C.

Ainda que tenham sido registradas temperaturas tão baixas quanto às mencionadas, as microalgas em cultivo mantiveram-se viáveis, demonstrando extrema resistência frente às variações ambientais decorrentes das diferenças nas estações climáticas atravessadas durante esse período.

Essa característica fortalece a capacidade da microalga utilizada como produtora de biomassa em escalas de produção industrial, uma vez que se mostrou eficaz no crescimento, mesmo em situações não favoráveis.

5.5 CRESCIMENTO CELULAR

Utilizando os dados provenientes das contagens em microscopia óptica, foram determinadas as curvas de crescimento da microalga nos dois cultivos realizados.

Para cada ponto utilizado para a confecção da curva, foram feitas três contagens e a média empregada na confecção do gráfico, bem como o desvio padrão associado. A figura 16 mostra a curva de crescimento construída utilizando os dados obtidos dos cultivos A e B e o volume de operação do reator.

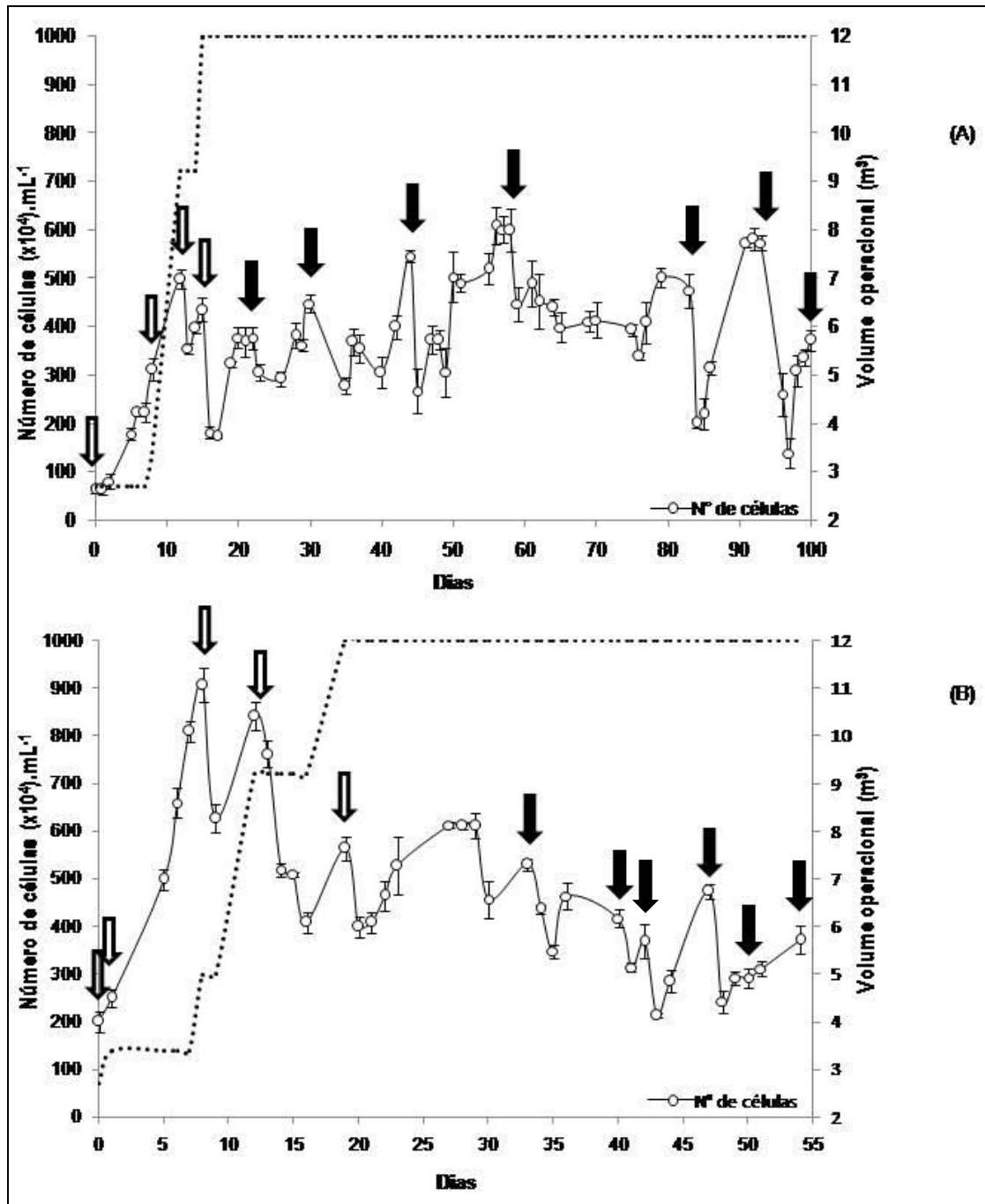


FIGURA 16 – CRESCIMENTO CELULAR DOS CULTIVOS A e B

FONTE: O autor

Setas brancas = abertura de ramais; setas pretas = diluições do sistema; linha pontilhada = volume operacional do reator.

A figura 16 detalha o crescimento celular, expresso pelo número de células por mililitro de cultivo, bem como os pontos em que foram realizadas manobras de abertura de ramais durante o processo de inoculação (setas brancas), os momentos em que foram realizadas as diluições (setas pretas), com retirada de alíquota e

reposição de meio para o mesmo volume retirado e o volume operacional do reator (linha pontilhada).

A figura 16 apresenta ainda as barras de desvio padrão calculado a partir da média dos dados obtidos. Para alcançar o intervalo de confiança de 95%, foi utilizado o dobro do desvio padrão calculado para a média de cada um dos pontos registrados.

Para o cultivo A, os picos de densidade celular foram obtidos nos dias 58 e 93, enquanto que os menores valores observados ocorreram no primeiro dia, logo após a inoculação e no 97º dia de cultivo.

O cultivo B teve início com média de 200×10^4 células.mL⁻¹, alcançando o pico da concentração celular em 908 ($\times 10^4$) células.mL⁻¹, no oitavo dia de cultivo, quando foi realizada manobra de abertura de novos ramais.

De modo geral, os maiores valores de concentração celular observados para o cultivo B foram obtidos nos momentos iniciais do experimento, o que é, em parte, reflexo do processo intenso de formação de biofilme, que causa diminuição da quantidade de luz no interior dos tubos e a diminuição do crescimento das algas.

É imperativo apontar que os valores de concentração celular máxima observados no cultivo B foram maiores que os registrados para o cultivo A, tal resultado é um reflexo de uma modificação no sistema de aeração do fotobiorreator, realizada entre um experimento e outro.

A modificação mencionada se refere à colocação de uma membrana difusiva na entrada de ar comprimido, resultando na produção de bolhas de ar com menor diâmetro, aumentando a eficiência das trocas gasosas no sistema.

É possível constatar que as aberturas de ramais e as diluições ocorreram em momentos em que a concentração celular registrada era elevada em ambos os experimentos, tal metodologia permitiu que o sistema pudesse fornecer a maior quantidade de biomassa possível para o período, garantindo crescimento contínuo e prolongado.

Vale observar que, em geral, os pontos em que foram registrados os menores valores de concentração celular coincidem com os momentos posteriores à realização de diluições do sistema, onde eram retiradas alíquotas para floculação.

5.6 DENSIDADE ÓPTICA

Assim como as demais análises, as medições de densidade óptica foram realizadas diariamente para os dois experimentos, com a finalidade de obter um perfil geral de crescimento e multiplicação das microalgas em cultivo.

A escolha do comprimento de onda em 540 nm se deu em virtude de ser uma faixa não absorvida pela clorofila, desta maneira, os resultados de absorbância obtidos refletem a concentração de células no meio em decorrência do espalhamento da luz.

A figura 17 mostra a variação da densidade óptica em 540 nm durante o período de duração dos cultivos A e B no fotobiorreator. Estão representados os pontos em que foram realizadas manobras de abertura de ramais durante o processo de inoculação (setas brancas), assim como os momentos em que foram realizadas as diluições (setas pretas), com retirada de alíquota e reposição de meio para o mesmo volume retirado.

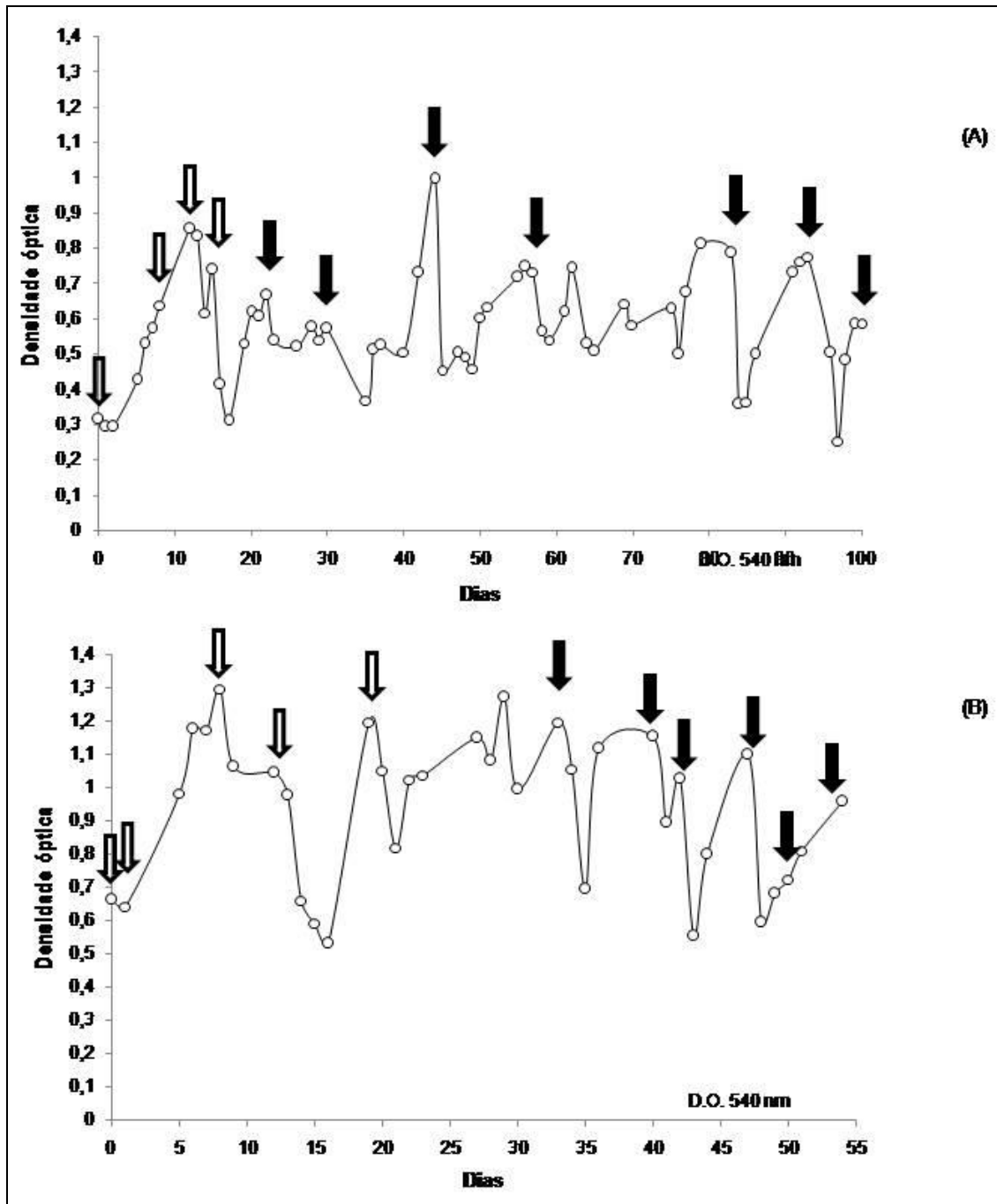


FIGURA 17 – DENSIDADE ÓPTICA DOS CULTIVOS A e B

FONTE: O autor

De maneira geral, o acompanhamento da variação da densidade óptica pode ser visualizado como uma alternativa no acompanhamento de cultivo de microalgas, uma vez que além de ser válida para essa finalidade, apresenta a vantagem de ser mais prática e rápida do que a contagem, tomando menos tempo da pessoa que está realizando a análise.

5.7 VARIAÇÃO DO pH DURANTE OS CULTIVOS

O CO₂ se difunde na água na forma de ácido carbônico, o que resulta na redução do pH. À medida que as células se dividem e a concentração celular do cultivo aumenta, cresce também o consumo do CO₂ presente, resultado na elevação do pH.

As variações dos valores de pH durante o período de execução desse projeto foram acompanhada para poder compreender o padrão geral de consumo e fixação de CO₂ pelas microalgas durante seu crescimento. A figura 18 apresenta o resultado da variação de pH durante a realização dos cultivos A e B.

A amplitude da variação do pH nas amostras do cultivo A foi de 4 unidades, variando de 7,37 no início do cultivo até o valor máximo de 11,37 no 55º dia de cultivo.

Em cultivos autotróficos, a fonte de carbono para as microalgas advém do CO₂, neste caso, foi uma opção utilizar apenas ar atmosférico comprimido como fonte de gás carbônico para o crescimento das algas.

Apesar de permanecer acima de 10 durante a maior parte do cultivo A, o pH alcalino não pareceu ser um problema para o crescimento das microalgas e produção de biomassa, embora a literatura relate a ocorrência de biofloculação em pH elevado.

Para o cultivo B, a amplitude registrada foi de 1,38 unidades de pH, com valor mínimo registrado de 8,3 na fase inicial de crescimento e valor máximo de 9,68 registrado no 22º dia de cultivo.

A menor variação nos valores de pH observados no cultivo B pode ser atribuída à modificação do sistema de aeração, que teve como resultado a melhora nas trocas gasosas e a manutenção dos valores abaixo de 10, em decorrência da redução do diâmetro das bolhas formadas pela entrada de ar comprimido. Cabe ressaltar que as diferenças de pH registradas no início dos cultivos ocorreu pela diferenças iniciais dos valores registrados nos inóculos utilizados.

Mais uma vez, a microalga em questão mostrou características desejáveis ao crescimento em ambiente externo, com pouco controle das variáveis que influenciam o crescimento em cultivo.

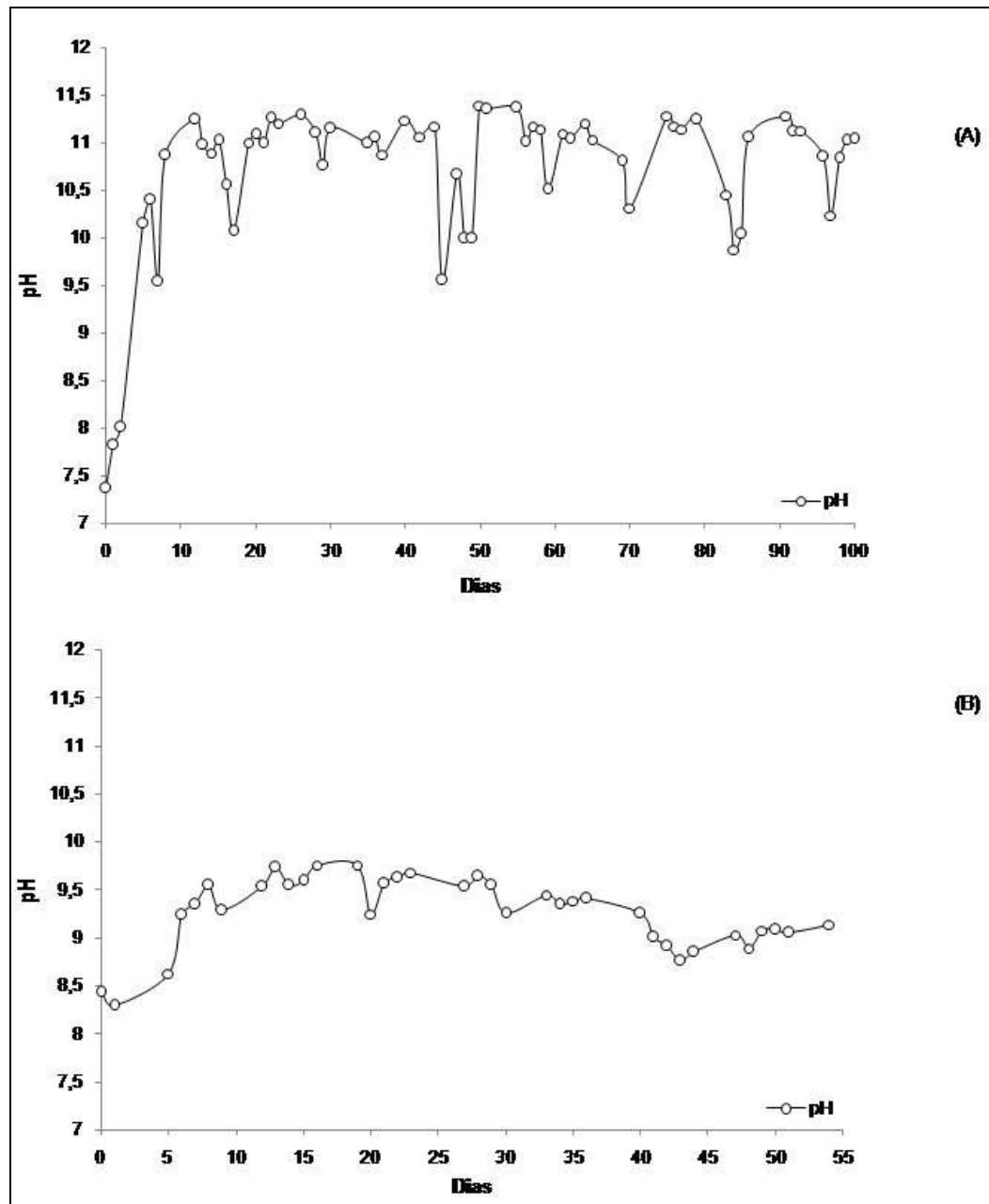


FIGURA 18 – VARIAÇÃO DO pH NOS CULTIVOS A e B

FONTE: O autor

5.8 BIOMASSA PRODUZIDA

A estimativa da produção de biomassa seca para o cultivo A foi realizada através da correlação entre a densidade óptica em 540 nm e a biomassa seca medida em cinco diferentes amostras do cultivo.

A tabela 7 apresenta a quantidade de biomassa seca obtida em cada uma das seis diluições realizadas no cultivo A, acrescida da biomassa recuperada no processamento do biofilme formado no interior dos tubos.

TABELA 7 – BIOMASSA OBTIDA NAS DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO A

Período (dias)	Biomassa seca (g.L⁻¹)	Volume (m³)	Biomassa seca total (g)
22	0,164	3	493
30	0,141	3	422
44	0,245	3	736
62	0,183	3	550
83	0,193	3	580
93	0,191	3	573
100	0,144	12	1734
Biofilme	1,800	2,5	4500
Total	0,2950	32,5	9588

FONTE: O autor

Os valores expressos na tabela acima são relativos aos volumes processados em cada manobra de diluição do sistema, exceto o valor relativo à biomassa obtida da recuperação do biofilme. Para cada diluição realizada foram retirados 3 m³, apenas no final do período de 100 dias é que foram processados os 12 m³ referentes ao volume total do reator.

É possível destacar que a produção mínima obtida no período foi de 422 g de biomassa seca, quando foram processados 3 m³ de cultivo no 30º dia de experimento. Excetuando-se a biomassa recuperada do biofilme, a maior produção

obtida foi registrada no 44º dia de cultivo, quando foram recuperadas 736 g de biomassa seca.

Para o cultivo B, a produção de biomassa foi quantificada a cada diluição realizada no fotobiorreator. A tabela 8 indica a produtividade alcançada em cada uma das cinco diluições realizadas durante o cultivo B, acrescida da quantidade obtida do processamento do volume total do reator ao final do experimento.

TABELA 8 – BIOMASSA OBTIDA NAS DILUIÇÕES DO FBR NO CULTIVO B

Período (dias)	Biomassa seca (g.L ⁻¹)	Volume (m ³)	Biomassa seca total (g)
33	0,6999	1	700
40	0,4456	1	446
42	1,2819	1	1282
47	0,4047	1	405
50	0,1945	1	194
54	0,2355	12	2826
Total	0,5437	17	5853

FONTE: O autor

Como citado anteriormente, foram realizadas cinco diluições do cultivo B para obtenção de biomassa. A maior produtividade observada foi registrada na terceira diluição, realizada no 42º dia de cultivo, com média de 12821,9 mg de biomassa, o que resultou na recuperação de aproximadamente 1282 g de biomassa seca, considerando o volume processado de 1 m³.

A menor produção foi registrada no 50º dia, com média de 194,5 mg de biomassa seca, o que resultou a obtenção de 194 g de biomassa considerando o mesmo volume processado anteriormente.

A formação do biofilme foi fundamental para o encerramento dos cultivos, uma vez que a deposição de algas nas paredes internas dos tubos teve como resultado a diminuição da passagem de luz e a redução da velocidade de escoamento do fluido.

Apesar de danosa, a formação de biofilme foi a razão pela qual foi desenvolvida a metodologia de limpeza do reator, que consiste na passagem de esponjas deslocadas por ar comprimido pelo interior dos tubos, removendo as células aderidas. Esta prática apresenta como vantagem a não utilização de produtos químicos, possibilitando que os tubos sejam limpos em paralelo com a realização dos cultivos, podendo prolongar ainda mais a duração dos experimentos.

A figura 19 apresenta o aspecto da biomassa floculada, filtrada e armazenada para posterior extração de lipídeos.



FIGURA 19 – BIOMASSA PROCESSADA PARA ARMAZENAGEM

FONTE: NPDEAS (2012)

5.9 TEOR DE LIPÍDEOS TOTAIS

O teor de lipídeos presente na biomassa obtida durante os dois cultivos não reflete diretamente a quantidade de ácidos graxos passíveis de conversão em biodiesel, uma vez que considera todas as substâncias de matriz lipídica das células, tais como membrana celular, reserva energética, pigmentos fotossintéticos, entre outros.

Ainda que os valores não reflitam a quantidade de ácidos graxos presentes na biomassa, a quantificação do teor de lipídeos totais foi realizada com a finalidade de definir, em linhas gerais, o potencial da microalga utilizada na geração de biodiesel.

Após a análise de três amostras da biomassa obtida do fotobiorreator, foram medidos os valores de lipídeos totais, que apresentaram média de $13,1\% \pm 0,2$ da biomassa seca de microalgas obtida.

Esses resultados são similares aos valores de lipídeos totais encontrados para *Scenedesmus* sp., obtidos em experimentos realizados por outros pesquisadores do NPDEAS.

Dados da literatura indicam que microalgas do gênero *Scenedesmus* podem apresentar teores de lipídeos que compreendem uma faixa de 1,9% a 55% do peso da biomassa seca. A tabela 9 ilustra os teores de lipídeos presentes em diferentes microalgas de água doce segundo a literatura.

TABELA 9 – TEOR DE LIPÍDEOS PARA DIFERENTES MICROALGAS

Espécie de microalga	Teor de lipídeos (%)
<i>Botryococcus</i> sp.	25 – 75
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	14,6 – 39,8
<i>Chlorella emersonii</i>	25 – 63
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6 – 57,8
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19 – 22
<i>Chlorella vulgaris</i>	5 – 58
<i>Chlorella</i> sp.	10 – 48
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2
<i>Chlorococcum</i> sp.	19,3
<i>Ellipsoidion</i> sp.	27,4
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11 – 55
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1,9 – 18,4
<i>Scenedesmus</i> sp.	19,6 – 21,1

FONTE: Adaptada de Amaro, Guedes e Malcata (2011)

Os resultados obtidos coincidem com os valores apresentados para outras espécies do mesmo gênero, embora esses dados sejam inferiores aos valores registrados para espécies com alto teor de lipídeos, como a espécie *Chlorella emersonii*, que possui de 25% a 63% do peso de sua biomassa seca correspondente a lipídeos.

5.10 PRODUTIVIDADE DO SISTEMA

Através dos dados de produtividade obtidos, foram estimados os valores relativos à produtividade do fotobiorreator durante o período de duração em cada cultivo.

A tabela 10 expressa os valores referentes às características operacionais do sistema, bem como os valores relativos à produção de biomassa de microalgas nos cultivos A e B. Para a estimativa de produção anual de óleo por hectare cultivado, foi utilizada a densidade do óleo de soja ($0,93 \text{ g.L}^{-1}$), bem como o teor lipídico da microalga, em torno de 13%.

TABELA 10 – CARACTERÍSTICAS E PRODUTIVIDADE DOS CULTIVOS A e B

Características	A	B
Área (m^2)	10	10
Volume processado (L)	32500	17000
Tempo (dias)	100	54
Biomassa total produzida (g)	9588	5853
Concentração média da biomassa (g.L^{-1})	0,29	0,34
Produtividade diária de biomassa (g.dia^{-1})	95,88	108,39
Produtividade volumétrica ($\text{g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$)	0,0030	0,0064
Estimativa da Produtividade anual de biomassa (Kg.ano^{-1})	35	39,5
Estimativa da Produtividade anual de biomassa por hectare ($\text{Kg.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$)	35000	39500
Estimativa da Produtividade de óleo anual por hectare ($\text{L.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$)	4231,5	4775,5

FONTE: O Autor

Considerando os valores de biomassa alcançados, é possível estimar a produtividade do reator sob diferentes perspectivas.

O total de biomassa produzida no cultivo A foi de aproximadamente 9,6 Kg de biomassa seca de microalgas durante o período de 100 dias de cultivo. Calculando a média de produtividade diária, é possível afirmar que a produção foi de 96 g de biomassa seca por dia. Extrapolando esses resultados para um período de 365 dias de cultivo, pode-se dizer que a produção esperada corresponde a aproximadamente 35 Kg de biomassa seca de microalgas durante um ano.

Cabe lembrar que essa produtividade é relativa a uma área de 10 m², a fim de estimar qual a produtividade de biomassa em larga escala de produção, pode ser considerado um hectare de área utilizável, o que resultaria na produção anual de aproximadamente 35 toneladas de biomassa seca de microalgas por hectare por ano.

Utilizando os dados referentes ao cultivo B, é possível conduzir uma análise de produtividade nos mesmos moldes.

O total de biomassa seca produzida no período de duração do cultivo B foi de 5,85 Kg, com produção diária de 108,39 g de biomassa. Considerando um período igual a um ano de cultivo, é possível estimar que a produção seria de aproximadamente 39,5 Kg de biomassa seca de microalgas.

Novamente, os valores de produtividade calculados são baseados na área ocupada pelo fotobiorreator, entretanto, é possível extrapolar os dados e calcular a produtividade anual em um hectare de cultivo de microalgas, o que resulta na produção de aproximadamente 39,5 toneladas de biomassa seca.

Quando comparados os índices de produtividade dos dois cultivos, o resultado se assemelha, indicando que a metodologia empregada na produção de biomassa, ainda que possua pequenas variações, mostrou ser eficaz.

Comparando os valores de produtividade diária para os dois cultivos, conclui-se que a produtividade total do cultivo B seria de aproximadamente 10,8 Kg de biomassa seca de microalgas em período de produção igual ao do cultivo A. Desconsiderando a influência da biomassa do biofilme no cultivo A, é possível afirmar que a produtividade do cultivo B seria praticamente o dobro da produtividade registrada no cultivo A.

A fim de realizar uma comparação mais precisa, foram calculados os valores de produtividade para os cultivos, excluindo a biomassa obtida do biofilme formado no cultivo A. A tabela 11 apresenta os valores de produtividade dos dois cultivos.

TABELA 11 – PRODUTIVIDADE DOS CULTIVOS A e B (sem biofilme)

Características	A	B
Biomassa total produzida (g)	5088	5853
Concentração média da biomassa (g.L ⁻¹)	0,16	0,34
Produtividade diária de biomassa (g.dia ⁻¹)	50,88	108,39
Produtividade volumétrica (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	0,0016	0,0064
Estimativa da Produtividade anual de biomassa (Kg.ano ⁻¹)	18,6	39,5
Estimativa da Produtividade anual de biomassa por hectare (Kg.ha ⁻¹ .ano ⁻¹)	18600	39500
Estimativa da Produtividade de óleo anual por hectare (L.ha ⁻¹ .ano ⁻¹)	2248,7	4775,5

FONTE: O Autor

A tabela acima indica que a produtividade do cultivo B foi o dobro da produtividade registrada no cultivo A, quando não é considerada a biomassa recuperada do biofilme formado no primeiro cultivo.

Novamente, é possível estabelecer comparações com dados disponíveis na literatura sobre a produtividade de biomassa e lipídeos em diferentes cultivares tradicionalmente empregados na produção de biodiesel.

A tabela 12 apresenta os dados de produtividade de óleo para diferentes espécies utilizadas na produção de biodiesel, bem como os dados de produtividade de óleo estimados para o fotobiorreator.

TABELA 12 – PRODUTIVIDADE DE CULTURAS TRADICIONAIS

Espécie	Teor de lipídeos (%)	Produtividade anual (L.ha⁻¹.ano⁻¹)
Milho (<i>Zea mays</i>)	44	172
Soja (<i>Glycine max</i>)	18	636
Canola (<i>Brassica napus</i>)	41	974
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	40	1070
Palma (<i>Elaeis guineensis</i>)	36	5366
<i>Scenedesmus</i> sp. (Fotobiorreator)	13	4503

FONTE: Adaptada de Ahmad *et al.* (2011)

Considerando os dados de produtividade obtidos e uma área de produção igual a um hectare, é possível concluir que a produtividade alcançada em ambos os cultivos realizados no fotobiorreator é superior à produtividade de quatro das principais culturas destinadas à produção de biodiesel.

Enquanto o girassol possui produtividade de óleo igual a $1070 \text{ L.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$, o fotobiorreator possui potencial para produzir cerca de $4503 \text{ L.ha}^{-1}.\text{ano}^{-1}$, considerando a média das produtividades alcançadas nos cultivos A e B.

Ainda em termos comparativos, se considerarmos a produtividade esperada para o cultivo de girassol em uma área igual a ocupada pelo fotobiorreator, 10 m^2 , a quantidade de óleo produzida seria de apenas aproximadamente 1 L.ano^{-1} , enquanto que a microalga utilizada tem produção estimada de aproximadamente $4,5 \text{ L.ano}^{-1}$.

Comprando os cultivos de microalgas realizados no FBR do NPDEAS com as principais culturas utilizadas na produção de biodiesel, a única que apresenta maior produtividade é a Palma, com produção de óleo anual de $5,366 \text{ L.ano}^{-1}$, superior aos $4,5 \text{ L}^{-1}.\text{ano}$ estimados para o fotobiorreator.

6. CONCLUSÃO

A finalidade primária desse estudo consistiu na realização de cultivos em modo semicontínuo de microalgas nos fotobiorreatores desenvolvidos pelo NPDEAS, a fim de conhecer o potencial de produção do sistema.

Deste modo, os dados coletados durante a execução dos experimentos e apresentados e discutidos nesse trabalho permitem concluir que:

- A metodologia adotada na produção de inóculo foi adequada para a realização das etapas que antecederam a inoculação do fotobiorreator, iniciando a produção em cultivos em escala laboratorial até atingir uma escala de cultivo de nível industrial;
- Apesar de a microalga apresentar baixo teor de lipídeos, com apenas cerca de 13%, os resultados do crescimento celular indicam que a microalga utilizada foi resistente às variações ambientais do período, o que é uma característica favorável a sua utilização durante as várias estações do ano.
- A produtividade de óleo em ambos os cultivos foi superior quando comparada com outras culturas que possuem a mesma finalidade de produção de biodiesel, entretanto, cabe ressaltar que a espécie de microalga apresenta baixo potencial para este fim. Tais fatores indicam que o sistema apresenta potencial de aprimoramento nos resultados obtidos;
- O sistema de cultivo apresentou, num primeiro momento, algumas limitações estruturais, como por exemplo, a baixa eficiência nas trocas gasosas, embora para a realização do segundo cultivo essa característica já tenha sido modificada e tenha apresentado resultados promissores;
- A formação de biofilme é uma dificuldade operacional que pode ser danosa à realização dos cultivos, causando a redução da quantidade luz que penetra nos tubos e reduzindo o crescimento das microalgas;

De todas as considerações que são possíveis fazer acerca da realização desse trabalho, talvez a mais importante seja o fato de que os resultados obtidos são fruto de um esforço inicial, sendo assim, inúmeros desafios e dificuldades

necessitam ser superados, o que configura a pesquisa nessa área como um campo de novas possibilidades a serem exploradas.

Além das considerações acerca dos resultados, é possível pontuar o crescente interesse da comunidade científica sobre a utilização das microalgas na geração de biocombustíveis, o que constitui em oportunidades promissoras de atuação para biólogos interessados em contribuir com o desenvolvimento dessa área.

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Por todas as razões já apresentadas, esse trabalho gerou a oportunidade de experimentar as reais dificuldades do cultivo de microalgas em larga escala, desde a manipulação das microalgas até a própria operação do fotobiorreator.

Seguindo essa linha de raciocínio, podem-se apontar caminhos para a realização de investigações futuras, que objetivem o aumento do desempenho aqui alcançada.

A seguir estão listadas algumas das possibilidades a serem exploradas em trabalhos futuros:

- Investigar outras espécies com elevado teor de lipídeos e que possuam potencial para geração de biodiesel;
- Quantificar o consumo de nutrientes durante as fases de crescimento no fotobiorreator, a fim de operar o sistema de maneira mais eficiente, controlando as adições de meio de cultivo;
- Compreender as possíveis deficiências do sistema, a fim de aumentar a produtividade alcançada (troca gasosa, biofilme, controle de pH, velocidade de circulação);
- Desenvolver metodologias que possibilitem o aumento da capacidade de produção de biomassa e redução dos custos de cultivo;
- Realizar o cultivo das microalgas em modo contínuo, com o desenvolvimento de ferramentas que possibilitem diluição e recuperação de biomassa de forma automatizada.

REFERÊNCIAS

AHMAD, A. L. *et al.* Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 584 – 593, 2011.

AMARO, H. M., GUEDES, A. C., MALCATA, F. X. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. **Applied Energy**, v. 88, p. 3402 – 3410, 2011.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil**: Chave para identificação e descrições. São Carlos: RiMa, 2005.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extraction of biofuels ad co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557 – 577, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, p. 294 - 306, 2007.

CHU, S. P. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. **Journal of Ecology**, v. 30, p. 284 – 325, 1942.

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**, v. 88, p. 3541 - 3547, 2011.

DE LA NOUE, J.; DE PAUW, N. The potential of microalgal biotechnology: A review of production and uses of microalgae. **Biotechnology advances**, v. 6, p. 725 - 770, 1988.

KONUR, O. The scientometric evaluation of the research on the algae and bio-energy. **Applied Energy**, v. 88, p. 3532 – 3540, 2011.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, v. 32, p. 1569 – 1608, 2009.

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

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217 - 232, 2010.

MELIS, A., MELNICKI, M. R. Integrated biological hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 31, p. 1563 – 1573, 2006.

REVIERS, B. de. **Biologia e filogenia das algas**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

RODRIGUES, W. C. **Apostila de estatística aplicada**. 6. ed., 2008. Disponível em: < <http://pt.scribd.com/doc/53715597/61/>>. Acesso em: 15/02/2013.

SOARES, D. **Avaliação do crescimento e celular e produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo**. 107 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SINGH, G. H.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 2347 - 2353, 2012.

SUALI, E.; SARBATLY, R. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 4316 – 4342, 2012.