

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DHYOGO MILÉO TAHER

BODIESEL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM DEJETO SUÍNO  
BODIGERIDO

CURITIBA

2013

DHYOGO MILÉO TAHER

BIODIESEL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM DEJETO SUÍNO  
BIODIGERIDO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. André Bellin Mariano

CURITIBA

2013

T128

Taher, Dhyogo Miléo

Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno  
biodigerido / Dhyogo Miléo Taher. – Curitiba, 2013.

106f. : il., tab., graf.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná,  
Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em  
Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: André Bellin Mariano

1. Biodiesel - Microalgas. 2 Suíno - Esterco. I. Mariano,  
André Bellin. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD: 665.37





UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais- PIPE  
Setor de Tecnologia

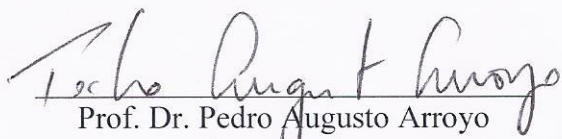
## RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e três dias do mês de agosto de 2013, na Sala de Reuniões do NPDEAS - no Centro Politécnico - UFPR, foi instalada pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Sofia Clímaco Monteiro de Oliveira, Vice-Coordenadora do PIPE – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, a Banca Examinadora para a ducentésima quadragésima oitava defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais. Estiveram presentes no ato, além do coordenador do Curso de Pós-Graduação, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo a determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais, foi constituída pelos professores doutores: Prof. Dr André Bellin Mariano (UFPR), Marilda Munaro (UFPR), Pedro Augusto Arroyo (UEM). Às 09:00 horas, a banca iniciou os trabalhos, convidando o candidato **DHYOGO MILÉO TAHER** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada **“BIODIESEL DE MICROALGAS CULTIVADA EM DEJETO SUÍNO BIODEGERIDO.”** Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela Aprovação do candidato, (de acordo com a determinação dos artigos 68 e 69 da resolução 65/09 de 09.11.2009).

Curitiba, 23 de agosto de 2013.

  
Prof. Dr. André Bellin Mariano  
Orientador

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marilda Munaro  
Examinadora

  
Prof. Dr. Pedro Augusto Arroyo  
Examinador

*A todos aqueles que enxergam na natureza  
e meio-ambiente o verdadeiro motivo pelo  
qual estamos aqui*

## **AGRADECIMENTOS**

Após 108 páginas arduamente escritas nesse trabalho, essa com certeza é a seção mais difícil de se redigir.

Agradeço a Deus por ter tornado esse momento possível. Por ter chego, até então, ao ápice da minha carreira.

À minha mãe, amiga, parceira e conselheira de todas as horas, e meu pai (mesmo estando no céu), por terem a muito custo me dado a base necessária para atingir mais esse objetivo.

Ao meu amigo, professor e orientador Dr. André Bellin Mariano, pelo companheirismo, apoio, suporte, orientação e injeção de ânimo necessários.

À Débora Andreatta da Silva, que foi crucial em seus palpites, formatações e auxílio na reta final. Sem você esse trabalho não teria acontecido.

Aos meus amigos e colegas do NPDEAS, que de alguma forma tenham contribuído com esse trabalho, em especial Diego de Oliveira Corrêa, Bruno Miyawaki e Beatriz Santos.

Por fim, agradeço aos porquinhos por produzirem grandes quantidades de dejetos ricos em nutrientes e às microalgas, por não serem tão exigentes e usarem esse resíduo para sua própria nutrição e crescimento.

*O que conta  
Na vida (sabedoria)  
Que o contrário se prove  
É sem qualquer teoria  
Tirar dez  
Naquela prova dos nove  
(autor desconhecido)*

## RESUMO

Estudos atuais mostram o grande potencial da utilização de microalgas para a produção de biodiesel e geração de energia devido ao seu rápido crescimento, produtividade e alto teor de lipídeos. O aprimoramento dos processos de produção e a diminuição de custos são os principais desafios a serem superados no desenvolvimento dessa tecnologia. Como o meio de cultivo corresponde a 75% do custo de produção da biomassa, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a utilização de dejetos provenientes de suinocultura como alternativa ao meio de cultivo sintético no cultivo de microalgas. O efluente suíno é rico em fósforo e nitrogênio e se configura como grave problema ambiental se descartado incorretamente. Com base nesses dados, propôs-se três diluições do dejetos em água (5%, 10% e 30%). Os melhores resultados foram obtidos em cultivo em reator airlift na diluição de 10%, com concentração final de células igual a  $5199 \pm 458 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$  e produção efetiva de biomassa de  $1,44 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$ . Esses resultados são 70% e 40% superiores quando comparados ao meio de cultivo sintético usado como controle. Após a recuperação da biomassa, o óleo foi extraído e o biodiesel sintetizado por esterificação enzimática. O perfil lipídico dos ácidos graxos presentes no óleo consistiu em 29,12% saturados, 49,08% monoinsaturados e 20,5% poli-insaturados. A produção de óleo em 15 dias de cultivo com efluente suíno correspondeu a  $360 \text{ mg.L}^{-1}$ , sendo 46% superior ao cultivo controle. A conversão do óleo em biodiesel consistiu em 98,73% em 12 horas. Além disso, avaliou-se a capacidade de remoção de nutrientes do efluente pelas microalgas e alcançou-se uma diminuição média de 94,5% de nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico e nitrogênio total. Os resultados puderam comprovar a eficiência da utilização de resíduo suíno como meio de cultivo e fonte de nutrientes para as microalgas, a viabilidade da produção do biodiesel e a consequente biorremediação desse dejetos, demonstrando o potencial que o cultivo de microalgas apresenta em relação a produção de biocombustíveis e adequação ambiental de efluentes.

Palavras chaves: biodiesel, microalga, dejetos suínos, biorremediação.

## ABSTRACT

Current studies show the great potential of using microalgae for biodiesel production and energy generation due to its simple structure, fast growth and high lipid content. The improvement of production processes and the reduction of the costs are the main challenges to be overcome in the development of this technology. As the culture medium corresponds to 75% of the production cost of biomass, this study aimed to evaluate the use of manure from swine as an alternative to synthetic culture medium in the cultivation of microalgae. The swine wastewater is rich in phosphorous and nitrogen and is configured as a serious environmental problem if discarded improperly. Based on these data, it was proposed three dilutions of manure in water (5%, 10% and 30%). The best results were obtained in airlift reactor cultivation at the dilution of 10%, with cell growth of  $5199 \pm 458 \times 10^4 \text{ cé.l.mL}^{-1}$  and effective biomass gain of  $1.44 \pm 0.04 \text{ g.L}^{-1}$ . These results are 70% and 40% higher when compared to the control medium. The lipid profile of the fatty acids present in the oil consisted of 29.12% saturated, 49.08% monounsaturated and 20.5% polyunsaturated. Oil production in 15 days of culture with swine wastewater corresponded to  $360 \text{ mg.L}^{-1}$ , 46% higher than the control cultivate. The conversion of oil to biodiesel consisted of 98.73% in 12 hours. Furthermore, it was evaluated the capacity of microalgae to remove nutrients from wastewater and it was reached an average decrease of 94.5% of ammoniacal nitrogen, organic nitrogen and total nitrogen. The results could prove the efficiency of the use of pig waste as culture medium and nutrient source for microalgae, the viability of biodiesel production and the consequent bioremediation of this manure, demonstrating the potential that the cultivation of microalgae shows in the production of biofuels and the environmental suitability of effluents.

Keywords: biodiesel, microalgae, swine manure, bioremediation.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – REPRESENTAÇÃO DE TRABALHOS LEVANTADOS NA BASE ISI DE ARTIGOS RELACIONANDO <i>Scenedesmus</i> COM PALAVRAS-CHAVE DE INTERESSE .....	27
FIGURA 02 – TRÊS PRINCIPAIS SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS. (A) LAGOAS TIPO PISTA, (B) LAGOA TIPO CIRCULAR, (C) TANQUE ABERTO .....	39
FIGURA 03 – DIFERENTES CONFIGURAÇÕES DE FOTOBIORRETORES TUBULARES. (A) PROTÓTIPO MINI-FOTOBIORREATOR, (B) REATOR TIPO AIRLIFT, (C) FOTOBIORREATOR DE 10 m <sup>3</sup> ..	41
FIGURA 04 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO NPDEAS .....	42
FIGURA 05 – FOTOBIORREATOR DE 10 m <sup>3</sup> SITUADO NO NPDEAS. (A) FOTOBIORREATOR, (B) BOMBA DE CIRCULAÇÃO E COLUNA DE TROCAS GASOSAS, (C) VISÃO DETALHADA DOS RAMAIS.....	43
FIGURA 06 – FLUXOGRAMA DAS METAS E ESTRATÉGIAS DE TRABALHO .....	47
FIGURA 07 – SALA DE CULTIVO. (A) VISÃO GERAL DA SALA, (B) MICROGRAFIA DA MICROALGA <i>Scenedesmus</i> sp. COM AUMENTO DE 400X.....	48
FIGURA 08 – BIODIGESTOR DE ONDE FOI COLETADO O EFLUENTE SUÍNO (CASTRO – PR). (A) BIODIGESTOR TIPO LAGOA COBERTA, (B) EFLUENTE BIODIGERIDO COLETADO EM LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO.....	49
FIGURA 09 – DISPOSIÇÃO DOS CULTIVOS EM ESCALA LABORATORIAL .....	51
FIGURA 10 – CULTIVOS EM REATORES TIPO AIRLIFT.....	52
FIGURA 11 – CURVA TÍPICA DE CRESCIMENTO CELULAR. (1) FASE LAG, (2) FASE DE CRESCIMENTO EXPONENCIAL, (3) FASE DE	

CRESCIMENTO LINEAR, (4) FASE ESTACIONÁRIA, (5) FASE DE DECLÍNIO .....	53
FIGURA 12 – SISTEMA DE FILTRAÇÃO .....	55
FIGURA 13 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO A FRIO DE LÍPIDEOS PARA DETERMINAÇÃO ANALÍTICA.....	58
FIGURA 14 – PROCESSO DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA. (A) ANTES, (B) ADIÇÃO DE CLORETO FÉRRICO HEPTAHIDRATADO E AGITAÇÃO, (C) MICROALGAS FLOCULADAS.....	59
FIGURA 15 – REPRESENTAÇÃO NORMAL SIMÉTRICA .....	63
FIGURA 16 – EFLUENTE SUÍNO APÓS O PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO .....	65
FIGURA 17 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE DENSIDADE CELULAR DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%.....	66
FIGURA 18 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%.....	67
FIGURA 19 – RESULTADOS DAS ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%.....	69
FIGURA 20 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE pH DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%.....	71
FIGURA 21 – ATIVIDADES E EXPERIMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL.....	72
FIGURA 22 – RESULTADOS DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E COM DEJETO SUÍNO DILUÍDO A 10% REALIZADOS EM REATOR AIRLIFT. (A) DENSIDADE CELULAR, (B) BIOMASSA SECA, (C) ABSORBÂNCIA EM 540 nm, (D) pH.....	74

FIGURA 23 – ASPECTO DO ÓLEO DURANTE A EXTRAÇÃO DE MATERIAL APOLAR A PARTIR DOS CULTIVOS REALIZADOS COM DEJETO SUÍNO EM REATOR AIRLIFT (LIPIDEOS + SOLVENTES) .....	76
FIGURA 24 – CONVERSÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS A BODIESEL POR ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA.....	82
FIGURA 25 – ATIVIDADES E EXPERIMENTOS EM REATOR AIRLIFT .....	85

## LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – EXEMPLOS DE TRABALHOS REALIZADOS COM A MICROALGA <i>Scenedesmus</i> sp. (1996 - 2013) EM ÁREAS CORRELATAS A ESTE ESTUDO .....	26
TABELA 02 – MATÉRIAS-PRIMAS USADAS PARA A PRODUÇÃO DO BODIESEL NO BRASIL DE 2008 A 2012 (VALORES EXPRESSOS EM m <sup>3</sup> ) .....	29
TABELA 03 – COMPARATIVO DE PREÇOS ENTRE O DIESEL FÓSSIL E BODIESEL DE 2008 A 2012 (R\$/m <sup>3</sup> ).....	30
TABELA 04 – RENDIMENTO ANUAL DE ÓLEO PARA PLANTAS OLEAGINOSAS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DO BODIESEL .....	32
TABELA 05 – EFETIVO SUÍNO NO BRASIL (1990 – 2009) .....	33
TABELA 06 – COMPOSIÇÃO MÉDIA DE RESÍDUO SUÍNO BODIGERIDO.	34
TABELA 07 – PRODUÇÃO DE DEJETO POR DIFERENTES CATEGORIAS DE SUÍNOS .....	35
TABELA 08 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MEIO CHU MODIFICADO .....	38
TABELA 09 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DESENVOLVIDAS PELO NPDEAS DE 2008 A 2013.....	44
TABELA 10 – PROPORÇÕES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO INICIAIS DOS CULTIVOS COM RESÍDUO SUÍNO .....	50
TABELA 11 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM ESCALA LABORATORIAL .....	70
TABELA 12 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT .....	74
TABELA 13 – RENDIMENTOS DE PRODUTIVIDADE DE LIPÍDEOS NOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT .....	77
TABELA 14 – TEOR LIPIDICO EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS .....	77
TABELA 15 – COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE MICROALGAS DO GÊNERO <i>Scenedesmus</i> .....	78

TABELA 16 – COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS MICROALGAS E DA SOJA, CANOLA E PALMA .....	80
TABELA 17 – REMOÇÃO DE NUTRIENTES DO RESÍDUO SUÍNO APÓS A SEPARAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS .....	83
TABELA 18 – REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIACAL DE DIFERENTES TRABALHOS .....	83

## LISTA DE SIGLAS

ABIOVE	– Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
BHT	– Butilhidroxitolueno
CEPPA	– Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos
CONAMA	– Conselho Nacional do Meio Ambiente
DBO	– Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	– Demanda Química de Oxigênio
EMPRAPA	– Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IBGE	– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
KOH	– Hidróxido de potássio
NPDEAS	– Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável
PVC	– Poli Cloreto de vinila
TECPAR	– Instituto de Tecnologia do Paraná

## LISTA DE ABREVIATURAS

cél	– Células
g	– Grama
pg	– Picograma
ha	– Hectare
kg	– Quilograma
L	– Litro
m <sup>3</sup>	– Metros cúbicos
mg	– Miligrama
Mha	– Mega hectare
mm	– Milímetros
min	– Minutos
mL	– Mililitros
N	– Nitrogênio
µm	– Micrômetro
nm	– Nanômetro
P	– Fósforo
rpm	– Rotação por minuto
U	– Unidade de atividade enzimática
W	– Watts
°C	– Graus Celsius
<i>p</i>	– Teste t de <i>Student</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

% – Porcentagem

R\$ – Real

$\Delta$  – Delta

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
1.1 ORGANIZAÇÃO DO DOCUMENTO .....	20
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>22</b>
2.1 MICROALGAS .....	22
2.1.1 <i>Chlorella</i> sp. ....	23
2.1.2 <i>Spirulina</i> sp.....	24
2.1.3 <i>Dunaliella salina</i> .....	24
2.1.4 <i>Haematococcus pluvialis</i> .....	25
2.1.5 <i>Scenedesmus</i> sp. ....	25
2.2 BIODIESEL .....	27
2.2.1 Biodiesel de microalgas.....	30
2.3 DEJETO SUÍNO .....	32
2.4 FORMAS DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS.....	37
2.4.1 Sistemas abertos.....	38
2.4.2 Sistemas fechados .....	39
2.5 CULTIVO DE MICROALGAS NO NPDEAS .....	41
<b>3 DESAFIOS E OBJETIVOS</b> .....	<b>45</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	45
3.1.1 Metas.....	45
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>
4.1 SELEÇÃO DAS MICROALGAS .....	48
4.2 COLETA E MANUTENÇÃO DO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO .....	49
4.3 MEIO DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE CULTIVO .....	49
4.4 AVALIAÇÃO DO CULTIVO .....	52
4.4.1 Determinação da densidade celular .....	52
4.4.2 Determinação da absorbância.....	53
4.4.3 Determinação de biomassa seca .....	54
4.4.4 Determinação de lipídeo totais .....	56
4.4.5 Determinação do pH dos cultivos.....	58
4.5 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA .....	59

4.6 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE PERFIL LIPÍDICO DO ÓLEO DE MICROALGAS .....	60
4.7 SÍNTESE DO BIODIESEL .....	60
4.8 ANÁLISE DA BIORREMEDIÇÃO DO RESÍDUO SUÍNO .....	62
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	62
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
5.1 VERIFICAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE DILUIÇÃO DO EFLUENTE SUÍNO PARA CULTIVO DAS MICROALGAS .....	64
5.2 CULTIVO EM REATOR AIRLIFT .....	72
5.2.1 Quantificação de lipídeos totais e síntese do biodiesel .....	76
5.2.2 Biorremediação do efluente suíno .....	82
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>86</b>
6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	87
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>88</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>103</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda energética nos dias atuais aumentou exponencialmente e o desenvolvimento de combustíveis alternativos e renováveis consiste em uma importante tarefa. O desenvolvimento tecnológico requer que as matrizes fornecedoras de energia sejam cada vez mais eficientes e numerosas. As fontes convencionais e fósseis de energia, apesar de abundantes, não são renováveis e sua queima acarreta problemas ambientais, como o aquecimento global e a chuva ácida. A pesquisa de energias renováveis e com menores índices de poluição ganha destaque e se mostra fundamental para o futuro.

Nesse contexto, uma alternativa promissora consiste na utilização de microalgas como matéria-prima para obtenção de óleo e produção de biodiesel a fim de atender a demanda de combustível e geração de energia para outros fins específicos.

Apesar de apresentar vantagens, como a não competição com alimentos e áreas agriculturáveis (podendo ser cultivadas em vários locais), o cultivo de microalgas para biocombustíveis apresenta-se hoje como tecnologia cara e sem capacidade de competir com fontes tradicionais de óleo como, por exemplo, as espécies vegetais oleaginosas. Dessa forma, aprimorar os processos envolvidos na produção de biomassa de microalgas de forma viável é importante para se atingir certa autonomia energética não dependente do petróleo. Os principais desafios apresentados por essa tecnologia são: o aprimoramento dos processos de cultivo e de isolamento do óleo e a relação custo/produzibilidade dos meios de cultivo necessários para produção da biomassa.

Tradicionalmente as microalgas têm sido empregadas na geração de alimentos para a aquicultura, na produção de alevinos e na cultura do camarão. Além disso, devido à sua capacidade de assimilar nutrientes presentes na água, as microalgas podem ser utilizadas na biorremediação e tratamento de águas contaminadas. De acordo com Abdel-Raouf, Al-Homaidan e Ibraheem (2012), o uso de culturas de microalgas para o tratamento de águas residuais de alta carga orgânica iniciou-se há 75 anos com os gêneros *Chlorella* e

*Dunaliella*. Esse biotratamento é interessante devido à conversão da energia solar em biomassa e à incorporação de nutrientes como o nitrogênio e o fósforo, que poderiam ocasionar o fenômeno da eutrofização de corpos hídricos (de la NOÛE e de PAUW, 1988).

Pensando sustentavelmente, os resíduos originários da criação de porcos podem se mostrar como alternativa para o barateamento e simplificação dos meios de cultivo das microalgas. Tais resíduos são ricos em nitrogênio e fosfato e são hoje dispensados em sua maior parte de forma incorreta, colocando em perigo a integridade ambiental e até mesmo a saúde dos seres vivos. Além de agregar valor à cadeia produtiva de proteína animal, propõe-se um ganho de produtividade microalgal (e de produção de biodiesel) e uma alternativa a um problema ambiental atual.

Neste contexto, o presente trabalho motivou-se pelo desenvolvimento de um meio de cultivo alternativo baseado em resíduos suínos biodigeridos, como alternativa aos meios de cultivos sintéticos. Desta forma, com a substituição dos nutrientes químicos, propôs-se a redução do custo de produção de biomassa com a avaliação concomitante da produtividade dos cultivos. O resultado do melhor processo desenvolvido foi submetido à extração de óleo e conversão à biodiesel. Como contrapartida, desenvolveu-se no processo um sistema para fixação de nutrientes e geração de água ambientalmente adequada ao descarte.

## 1.1 ORGANIZAÇÃO DO DOCUMENTO

Esse documento encontra-se dividido em 6 seções. A primeira seção apresenta a introdução e a organização do documento. A segunda seção mostra uma revisão bibliográfica acerca dos assuntos abordados nessa dissertação: microalgas, suas utilizações e espécies; o biodiesel, sua utilização, produção, panorama no Brasil e suas perspectivas; o dejetos proveniente da suinocultura, potencial problema ambiental e sugestão de reaproveitamento como meio de cultivo; formas de produção de microalgas e produção de

microalgas no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) da Universidade Federal do Paraná. Na terceira seção demonstra-se os objetivos propostos e metas traçadas para se alcançá-los. A quarta seção consiste nas metodologias e materiais utilizados nesse trabalho para se obter os resultados, que estão apresentados e discutidos na quinta seção. Por fim, a sexta parte desse documento apresenta as conclusões a que se permite chegar por meio desse trabalho e recomendações para trabalhos futuros. Nos anexos são apresentados os laudos das análises realizadas de perfil lipídico e teores de nutrientes.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICROALGAS

Microalgas são micro-organismos autotróficos presentes em sistemas aquáticos. Apresentam grande diversidade de formas, características e funções ecológicas e podem também ser economicamente exploradas em diversos campos (CAMPOS, BARBARINO e LOURENÇO, 2010). A partir de 1950 as microalgas começaram a ser utilizadas como fonte de alimento e de substâncias biologicamente ativas (AZEREDO, 2012). Em 1960 iniciou-se seu uso em escalas comerciais com o gênero *Chlorella* e a partir de 1970 as microalgas foram destinadas à aquicultura e outros fins biotecnológicos (SPOLAORE *et al.*, 2006).

Na alimentação, animal e humana, as microalgas representam uma fonte suplementar de proteínas, carboidratos, ácidos graxos, pigmentos naturais (como os carotenoides), vitaminas, entre outras substâncias capazes de enriquecer o valor nutricional dos alimentos e produzir efeitos benéficos à saúde como: melhoria da resposta imune, fertilidade e controle do peso (SPOLAORE *et al.*, 2006; DERNER *et al.*, 2006). Além disso, apresentam atividades probióticas e imunomodulatórias, respostas de melhora na saúde e aparência externa dos animais (SPOLAORE *et al.*, 2006).

Algumas espécies podem ser utilizadas para obtenção de compostos de interesse, como por exemplo, ácidos graxos, ácidos aminados e pigmentos, para indústrias de alimentos, farmacêutica e química (DERNER *et al.*, 2006; CAMPOS, BARBARINO e LOURENÇO, 2010). Os extratos microalgais também podem ser encontrados em produtos para a pele (cremes anti-idades, regenerativos ou refrescantes) (SPOLAORE *et al.*, 2006).

A composição bioquímica das microalgas, concentração total de proteínas, lipídeos e carboidratos, podem variar com as espécies e com as condições de cultivo, como a intensidade da luz, temperatura, nutrientes, agitação, pH e fase de crescimento (BROWN *et al.*, 1997; MIAO e WU, 2004).

O interesse no uso de microalgas para obtenção de biocombustíveis vem crescendo recentemente (CHISTI, 2007). Os biocombustíveis que podem ser obtidos de microalgas são: o biogás, a partir da biodigestão anaeróbia da biomassa microalgal; o biodiesel, a partir do óleo da microalga, e o bio-hidrogênio gasoso produzido fotobiologicamente.

O cultivo desses micro-organismos apresenta várias características interessantes quando comparado à cultura dos vegetais superiores, uma vez que possuem maior eficiência fotossintética e podem ser cultivadas em condições que seriam adversas a culturas convencionais (regiões desérticas; águas degradadas, salinas ou salobras, entre outras) (BENEMANN, 1997). Além disso, são eficientes na fixação de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e possuem produtividade maior em biomassa seca quando comparada com espécies vegetais (TEIXEIRA e MORALES, 2006).

Ao final do processo de extração do óleo das microalgas para a produção de biodiesel, a biomassa residual pode ainda ser utilizada na produção de bioetanol, metano ou biofertilizantes devido à sua alta relação nitrogênio/fósforo ou, ainda, pode ser simplesmente queimada para geração de energia em sistemas de cogeração (SINGH e GU, 2010; MATA, MARTINS e CAETANO, 2010).

As espécies de microalgas mais cultivadas nos dias atuais no mundo são: *Chlorella* sp. e *Spirulina* sp., utilizadas principalmente para a suplementação alimentar; *Dunaliella salina*, fonte de caroteno e *Haematococcus pluvialis*, para produção e processamento de astaxantina (AZEREDO, 2012).

#### 2.1.1 *Chlorella* sp.

A microalga *Chlorella* sp. é considerada boa fonte de proteínas devido à fácil assimilação dos aminoácidos presentes na sua composição e, assim sendo, é utilizada para a suplementação alimentar humana e também como alimento para a piscicultura. Em 1975 a produção mundial dessa espécie era de 200 toneladas por ano. Na década de 90 a produção atingiu os patamares

de 2000 toneladas por ano (RICHMOND, 2004). Hoje, os índices de produção de *Chlorella* sp. são de aproximadamente 5000 toneladas por ano. Dentre os países produtores, destacam-se Japão e Taiwan e o preço de venda praticado é de vinte mil dólares por tonelada (LUNDQUIST *et al.*, 2010; AZEREDO, 2012)

### 2.1.2 *Spirulina* sp.

Como a *Chlorella* sp., a microalga *Spirulina* sp. é utilizada na alimentação, desde aproximadamente o ano de 1300, principalmente devido à sua alta concentração proteica (RICHMOND, 2004). Além disso, possui reconhecido interesse farmacêutico. A ingestão dessa microalga seria responsável por inúmeros benefícios. Relatos descrevendo a melhora da defesa e sistema imunológico do organismo, inibição e prevenção de diversos tipos de câncer e diminuição das taxas de colesterol são comumente encontrados na literatura (RICHMOND, 2004; CHEONG *et al.*, 2010; KIM *et al.*, 2010; JOVENTINO *et al.*, 2012). As localidades líderes na produção dessa espécie microalgal são a Ásia e os Estados Unidos. A produção de *Spirulina* sp. era de aproximadamente 1000 toneladas por ano nos anos 90 e hoje produz-se até 5000 toneladas anuais a um preço de 10 mil dólares por tonelada (LUNDQUIST *et al.*, 2010).

### 2.1.3 *Dunaliella salina*

A *Dunaliella salina* é uma das espécies de microalgas mais robustas encontradas na natureza. Resiste a vários tipos de ambientes hostis, como águas salobras e salgadas e variadas temperaturas, desde as mais baixas até as mais elevadas (AZEREDO, 2012). Possui interesse econômico principalmente pela sua produção de carotenoides. Os principais centros de produção de *Dunaliella salina* são locais onde há intensa luminosidade, como,

por exemplo, a Austrália, China, Israel e Estados Unidos (del CAMPO, GARCÍA-GONZÁLEZ e GUERRERO, 2007). Sob condições ideais de temperatura e luminosidade, a taxa de  $\beta$ -caroteno em biomassa seca é de 10% (BEN-AMOTZ, 1999). O custo de produção da microalga *Dunaliella salina* é de aproximadamente 3,2 dólares por quilograma (KITTO, 2012), enquanto que o preço comercialização da biomassa seca varia de 215 a 2150 euros por quilograma (BRENNAN e OWENDE; 2010).

#### 2.1.4 *Haematococcus pluvialis*

A *Haematococcus pluvialis* também é produzida com o objetivo de exploração de seus carotenoides, principalmente a astaxantina. Porém, essa espécie é consideravelmente mais sensível que a *Dunaliella salina* no que se refere a condições ambientais, além de ser mais suscetível ao ataque de outros seres vivos que, conseqüentemente, contaminam seus cultivos. (AZEREDO, 2012). Por isso, a principal forma de cultivar a *Haematococcus pluvialis* é em reatores fechados (RANJBAR *et al.*, 2008) com controle do máximo de parâmetros possíveis. Isso faz com que os custos se elevem consideravelmente quando comparados ao cultivo de outras espécies. A tonelada do carotenoide astaxantina custa 10 mil dólares e a produção mundial é de apenas 100 toneladas por ano, devido à alta sensibilidade da espécie (LUNDQUIST *et al.*, 2010). Essa substância é utilizada como pigmento da carne de peixes, como salmões e trutas (LORENZ e CYSEWSKI, 2000).

#### 2.1.5 *Scenedesmus* sp.

A microalga *Scenedesmus* sp. tem sido utilizada como agente biorremediador na remoção de nutrientes da água, melhorando sua qualidade a curto prazo (MARTINEZ *et al.*, 2000). Em condições adequadas, as microalgas

utilizam energia luminosa, carbono e nutrientes para gerar biomassa, que pode ser posteriormente utilizada como matéria-prima para diversos produtos, como biocombustíveis (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010). Como a espécie utilizada nesse trabalho foi a *Scenedesmus* sp., realizou-se um levantamento da literatura sobre os objetos de estudos recentes realizados com essa microalga. Esse levantamento pode ser observado na TABELA 01.

TABELA 01 - EXEMPLOS DE TRABALHOS REALIZADOS COM A MICROALGA *Scenedesmus* sp. (1996 - 2013) EM ÁREAS CORRELATAS A ESTE ESTUDO

OBJETO DE ESTUDO	MICROALGA	AUTORES
Biorremediação de resíduos	<i>Scenedesmus acuminatus</i> <i>Scenedesmus</i> sp. <i>Scenedesmus obliquus</i>	Voltolina (1999); Adamsson (2000); Kim <i>et al.</i> (2007); Godos <i>et al.</i> (2010)
Suplementação alimentar	<i>Scenedesmus obliquus</i> <i>Scenedesmus</i> sp.	Bishop (1996); Yen, Chiang e Sun (2012)
Produção de biocombustíveis	<i>Scenedesmus incrassatulus</i> <i>Scenedesmus obliquus</i>	Ho, Chen e Chang (2010); Choi <i>et al.</i> (2011); Miranda, Passarinho e Gouveia (2012); Arias-Peñaranda <i>et al.</i> (2013)

FONTE: O autor (2013)

O resultado do levantamento dos títulos de artigos na base de dados ISI (Web of Knowledge) do termo *Scenedesmus* forneceu o seguinte resultado: *biofuel* (3), *bioenergy* (1), *waste* (16), *food* (14), *biodiesel* (15), *swine* (4), *supplement* (4), *oil* (26), *wastewater* (31), *photobioreactor* (6), *pond* (13), *sewage* (7), *biomass* (40), *methane* (3), *bioremediation* (2), *biodigester* (0), *pigment* (35), *ethanol* (1), *hydrogen* (17). O resultado pode ser observado na FIGURA 01. Data da pesquisa 11/07/13.

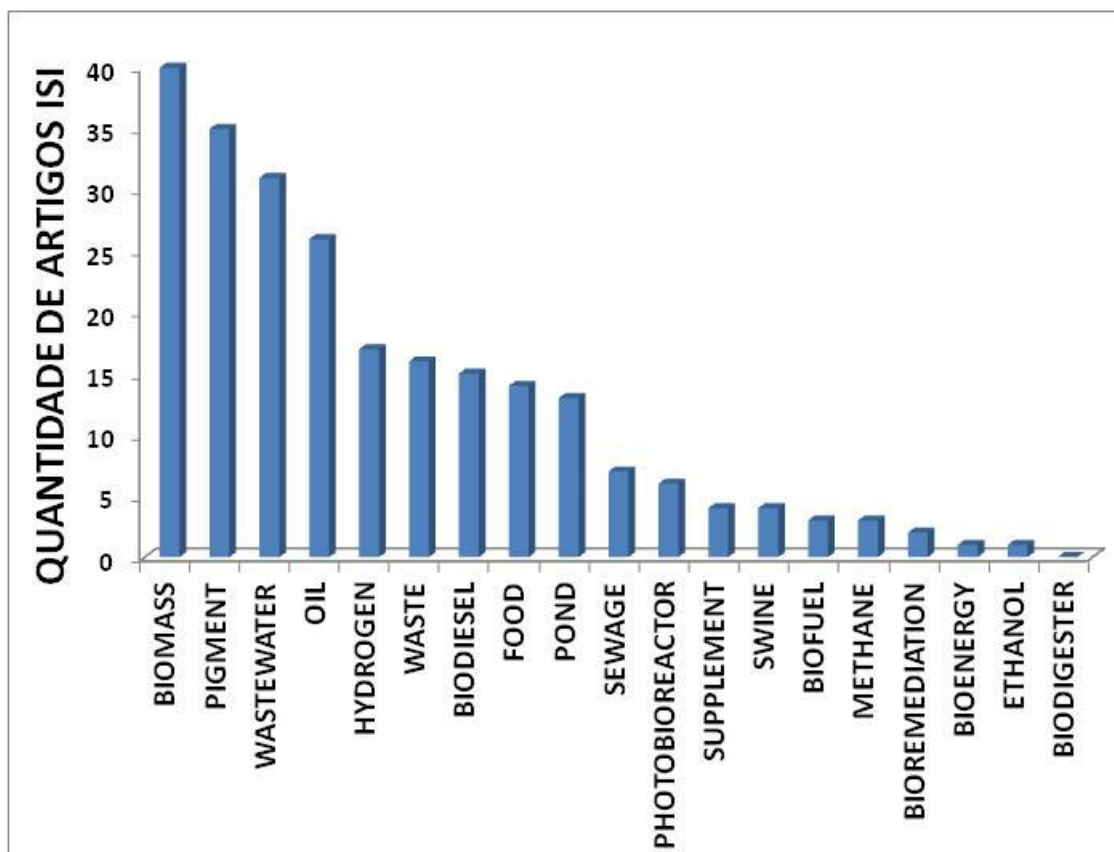


FIGURA 01 – REPRESENTAÇÃO DE TRABALHOS LEVANTADOS NA BASE ISI DE ARTIGOS RELACIONANDO *Scenedesmus* COM PALAVRAS-CHAVE DE INTERESSE  
 FONTE: O autor (2013)

Não foram encontrados na literatura dados referentes ao custo de produção da biomassa nem à produção mundial desta microalga. Desta forma, existe o potencial de desenvolvimento de uma nova matéria-prima baseado no cultivo da microalga *Scenedesmus* sp. para diversas finalidades.

## 2.2 BIODIESEL

A diminuição das reservas de petróleo e os impactos ambientais ocasionados pela emissão de gases oriundos da combustão do diesel fóssil fazem com que a produção de combustíveis alternativos ganhe atenção. O consumo energético mundial duplicou no período de 1971 a 2001 e a estimativa é que a demanda por energia aumente mais 53% até 2030

(TALEBIAN-KIAKALAIEH, AMIN e MAZAHERI, 2013). Devido ao seu potencial para uso misturado ao diesel, o biodiesel, que é caracterizado como combustível renovável e biodegradável, apresenta um crescente interesse científico (XIONG *et al.*, 2008).

Grande parte da atenção global tem sido para reduzir emissões de carbono por meio da utilização de fontes de energias não convencionais e combustíveis renováveis, visando à minimização da liberação de CO<sub>2</sub>, bem como o desenvolvimento da economia com baixos teores de gases produtores de efeito estufa (MATHEWS, 2008).

De acordo com dados do Balanço Energético Nacional de 2009, o petróleo atingiu 41,9% da produção de energia primária do país, porém, é um combustível não renovável (EPE, 2010). Para a substituição da matriz energética petrolífera, propõe-se a utilização de misturas de biodiesel em diesel com perspectivas para substituição completa ao diesel fóssil. Contudo, encontrar um substituto para o diesel em escala e preço apresenta-se como um grande desafio tecnológico a ser vencido.

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, (ANP, 2013), as matérias-primas mais utilizadas para a produção desse biocombustível são o óleo de soja (75,65%), gordura bovina (17,23%), óleo de algodão (1,00%), óleo de fritura (1,13%), óleo de palma/dendê (1,11%), gordura de porco (0,43%) e fontes diversas (3,45%). A TABELA 02 mostra índices aproximados por matéria-prima, segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE, 2013) até 2012. Pode-se notar a alta dependência da soja e a pequena diversificação de matérias-primas para a produção do biodiesel.

A Lei Federal Nº. 11.097 de 13 de janeiro de 2005 define biodiesel como: *biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil*. Além disso, essa lei fixa em, no mínimo, um percentual de 5% de biodiesel adicionado ao óleo diesel tradicional para poder ser comercializado no Brasil. A legislação em relação ao biodiesel foi atualizada em 2008 com a resolução nº 7 da ANP, na qual o biodiesel é

descrito como “combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais conforme a especificação contida no Regulamento Técnico, parte integrante desta Resolução”.

TABELA 02 – MATÉRIAS-PRIMAS USADAS PARA A PRODUÇÃO DO BIODIESEL NO BRASIL DE 2008 A 2012 (VALORES EXPRESSOS EM m<sup>3</sup>)

MATÉRIA-PRIMA	2008	2009	2010	2011	2012
Óleo de soja	801.320 (69%)	1.250.577 (78%)	1.960.822 (82%)	2.152.298 (81%)	2.042.730 (75%)
Sebo bovino	206.966 (18%)	258.035 (16%)	327.074 (14%)	357.664 (13%)	469.215 (17%)
Óleo de Algodão	18.353 (2%)	59.631 (4%)	57.458 (2%)	84.711 (3%)	123.325 (5%)
Outras	140.489 (12%)	40.206 (2%)	41.086 (2%)	78.088 (3%)	83.683 (3%)
Total	1.167.128 (100%)	1.608.448 (100%)	2.386.438 (100%)	2.672.760 (100%)	2.718.954 (100%)

FONTE: Adaptado de ABIOVE (2013)

Comparado ao diesel convencional, o biodiesel contém maiores taxas de oxigênio e menores taxas de enxofre, além de menor emissão de benzeno, tolueno e monóxido de carbono em sua combustão (TICA *et al.*, 2010). A redução na emissão de poluentes é da ordem de 68% de hidrocarbonetos não queimados, 40% de material particulado, 44% de monóxido de carbono, 100% de óxidos de enxofre, e 80% a 90% de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (LEDUC *et al.*, 2009; WU e LEUNG, 2011).

O encarecimento e a escassez dos combustíveis fósseis fazem com que o interesse econômico da produção de biodiesel aumente consideravelmente (HUANG *et al.*, 2010). Porém, os custos envolvidos na produção do biodiesel são altos quando comparados ao diesel tradicional, mesmo com intenso incentivo dos governos Federal/Estaduais destinados a isso. Os dados representados na TABELA 03 demonstram um comparativo

entre as médias de preços do diesel fóssil e do biodiesel e comprovam que de 2008 a 2012 o preço do biodiesel foi, em média, 23,5% maior que o preço do diesel. Pesquisas que objetivem a redução de custos, simplificação de processos e exploração de matérias-primas são importantes e de fundamental importância no cenário atual (MENG *et. al.*, 2009).

TABELA 03 – COMPARATIVO DE PREÇOS ENTRE O DIESEL FÓSSIL E BIODIESEL DE 2008 A 2012 (R\$/m<sup>3</sup>)

	2008	2009	2010	2011	2012
Diesel (preços nominais à distribuidora)	1.844,33	1.838,00	1.769,33	1.791,33	1.858,67
Biodiesel (preços nominais de leilões da ANP)	2.256,11	2.279,48	2.102,33	2.214,00	2.384,20

FONTE: Adaptado de ABIOVE (2013)

### 2.2.1 Biodiesel de microalgas

Mais de 95% do biodiesel de primeira geração produzido mundialmente provém de óleos de espécies vegetais comestíveis. Deste modo, os biocombustíveis de primeira geração podem impactar negativamente a produção de alimentos, encarecendo seu valor de mercado (DEMIRBAS, 2011).

No caso da soja, a maior parte da matéria-prima destina-se à produção de ração animal e, assim, a utilização de parte do óleo para produção de biodiesel não afeta a produção de alimentos. Além disso, houve substituição do óleo de soja pelo óleo de palma na produção de gordura hidrogenada já que esta fornece material livre de isômeros trans. Desta forma, a fabricação de biodiesel contribuiu economicamente com a cadeia produtiva da soja. Contudo, deve-se levar em consideração, em especial no caso da soja, as questões referentes ao alto uso de fertilizantes, pesticidas e agrotóxicos na monocultura

(MILAZZO *et al.*, 2013), bem como o uso de espécies transgênicas, cujos efeitos deletérios ainda estão em constante avaliação (GARCÍA *et al.*, 2009).

Os biocombustíveis de segunda geração, produzidos a partir de óleo de cozinha usado ou gordura animal, não causam impactos na produção de alimentos, porém, a sua produção exige que alguns desafios ainda sejam superados (AHMAD *et al.*, 2011). A grande quantidade de ácidos graxos saturados presente na gordura animal a torna sólida em temperatura ambiente e confere propriedades ruins no fluxo a frio desses biocombustíveis (AHMAD *et al.*, 2011). Além disso, essas matérias primas não apresentam escala de produção significativa a ponto de fornecer material suficiente para substituir o diesel. Outras matérias-primas consideradas de segunda geração para a produção de biocombustíveis são as plantas oleaginosas não comestíveis como o pinhão-manso, jojoba e a mamona.

O óleo obtido a partir das microalgas é classificado como matéria-prima de biocombustíveis de terceira geração. É uma potencial alternativa econômica interessante em relação aos combustíveis de outras gerações. A produção de óleo por microalgas pode ser 20 vezes maior se comparada a espécies vegetais oleaginosas (CHISTI, 2007; AHMAD *et al.*, 2011; FENG, LI e ZHANG, 2011).

As microalgas são eficazes conversoras de energia luminosa em energia química e podem ser cultivadas em áreas ociosas não apropriadas para a agricultura e, dependendo da espécie, em águas com altas taxas de sais e/ou contaminantes (HUBER, IBORRA e CORMA, 2006; GORDON e POLLE, 2007).

O conteúdo lipídico das células das microalgas varia, em média, de 20% a 40% em termos de biomassa seca, porém, alguns estudos relatam um conteúdo de lipídeos de mais de 85% para certas espécies de microalgas (MA e HANNA, 1999; LUQUE *et al.*, 2010; MAIRET *et al.*, 2011). Esses microorganismos podem produzir de 25 a 220 vezes mais triacilglicerídeos do que plantas oleaginosas terrestres (AHMAD *et al.*, 2011). A TABELA 04 mostra um comparativo da produção de óleo de microalgas e de plantas oleaginosas.

O custo de produção da biomassa de microalgas corresponde, em 75%, ao meio de cultivo utilizado para sua produção. Uma forma de desonerar

os processos de cultivo seria a utilização de resíduos com altas quantidades de nitrato e fosfato como, por exemplo, efluentes da suinocultura, bovinocultura etc.

TABELA 04 – RENDIMENTO ANUAL DE ÓLEO PARA PLANTAS OLEAGINOSAS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

CULTURA	RENDIMENTO ANUAL DE ÓLEO		ÁREA NECESSÁRIA (Mha) <sup>a</sup>
	(L/ha)	(L/m <sup>2</sup> )	
Milho	172	0,02	1540
Soja	446	0,04	592
Canola	1190	0,12	223
Coco	2689	0,27	99
Óleo de palma	5950	0,60	45
Microalga <sup>b</sup>	136.900	13,69	2
Microalga <sup>c</sup>	58.700	5,87	4,5
Microalga <sup>d</sup>	19.567	1,96	13,5

FONTE: Adaptado de Chisti (2007)

NOTA: <sup>a</sup> Para atender 50% de todos os combustíveis necessários aos transportes no EUA;

<sup>b</sup> 70% óleo (massa por) em biomassa;

<sup>c</sup> 30% óleo (massa por) em biomassa;

<sup>d</sup> 10% óleo (massa por) em biomassa

### 2.3 DEJETO SUÍNO

Um dos principais problemas enfrentados pelos criadores de porcos é o descarte inadequado do dejetos gerado pelos animais. Antigamente as criações eram compostas por poucos exemplares, o que fazia com que o volume de dejetos fosse pequeno. Nesses casos, o resíduo era aplicado nas plantações da fazenda onde eram produzidos na forma de biofertilizantes. Porém, o crescente número de suínos fez com que os espaços de confinamento destinados à sua criação tenham se tornado insuficientes, dificultando a dissipação e depuração dessa nova concentração maior de dejetos (BARLOW *et al.*, 1975).

Outro problema enfrentado pela prática de reaproveitamento do resíduo em plantações são as necessidades particulares de diferentes nutrientes de cada espécie vegetal, a vulnerabilidade e suscetibilidade dos

ecossistemas vizinhos e o custo da energia em decorrência da aplicação do dejetos (FLOTATIS *et al.*, 2009).

A TABELA 05 mostra a evolução do número efetivo de cabeças de porco no Brasil no período de 1990 a 2009. Uma informação muito relevante em relação a esse tema consiste no fato de que em algumas cidades pequenas, a produção de resíduos decorrentes da suinocultura corresponde à produção de esgoto sanitário de grandes centros urbanos.

Ainda de acordo com o IBGE (2010), o Paraná é o terceiro maior criador de porcos do Brasil, respondendo por 14,7% de todo o rebanho suíno nacional. O estado possui 5.096.224 cabeças e o município de Toledo é o terceiro município com maior quantidade de suínos do país (490.780 exemplares).

TABELA 05 – EFETIVO SUÍNO NO BRASIL (1990 – 2009)

ANO	EFETIVO DE REBANHO	ANO	EFETIVO DE REBANHO
1990	33.623.186	2000	31.562.111
1991	34.290.275	2001	32.605.102
1992	35.532.168	2002	32.013.227
1993	34.184.187	2003	32.304.905
1994	35.141.839	2004	33.085.299
1995	36.062.103	2005	34.063.934
1996	29.202.182	2006	35.173.824
1997	29.637.109	2007	35.945.015
1998	30.006.946	2008	36.819.017
1999	30.838.616	2009	38.045.454

FONTE: Adaptado de IBGE (2010)

O dejetos suíno é um dos resíduos agroindustriais mais poluentes atualmente no mundo e, se não processadas de maneira adequada, as altas concentrações de matéria orgânica, fósforo e nitrogênio podem causar

inúmeros problemas ambientais como a eutrofização de rios e corpos hídricos (CARPENTER *et al.*, 1998), contaminação de solos e mananciais subterrâneos (KRAPAC *et al.*, 2002), volatilização de amônia e degradação de solos férteis devido à super-fertilização dos mesmos (APSIMON, KRUSE e BELL, 1987). A TABELA 06 aponta as quantidades de compostos nitrogenados e fósforo presentes no efluente suíno. Além disso, pode-se encontrar grandes concentrações de metais pesados (como o cobre, chumbo e zinco) nesse resíduo (de la TORRE *et al.*, 2000).

TABELA 06 – COMPOSIÇÃO MÉDIA DE RESÍDUO SUÍNO BIODIGERIDO

NUTRIENTES	QUANTIDADE DE NUTRIENTES POR VOLUME DE DEJETO LÍQUIDO (g.L <sup>-1</sup> )
Nitrogênio amoniacal	0,92
Nitrogênio orgânico	0,21
Nitrogênio total	1,15
Fósforo total	0,34

FONTE: Adaptado de Kebede-westhead, Pizarro e Mulbry (2006)

Uma forma de se avaliar a carga orgânica de um efluente e, indiretamente, seu potencial poluente consiste na determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Nesta análise, mensura-se a quantidade de oxigênio necessário para a oxidação completa da matéria orgânica por unidade através de micro-organismos. Assim, altas taxas de DBO correspondem a efluentes com maiores teores de matéria orgânica e, desta forma, um material com maior potencial poluente.

Quando comparado ao esgoto doméstico, os dejetos suínos se mostram extremamente poluentes. A DBO desses resíduos é aproximadamente 200 vezes maior que a dos esgotos comuns, sendo a DBO do esgoto doméstico de 200 mg.L<sup>-1</sup> enquanto a de resíduos suínos de 40.000 mg.L<sup>-1</sup> (TECPAR, 2002).

A prática da digestão anaeróbia, apesar de combinar a remoção de matéria orgânica e produção de biogás para diversos fins, apresenta alguns inconvenientes como a baixa remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo), a necessidade de um complexo sistema de controle de processos e variáveis e a

relação desfavorável de carbono/nitrogênio de efluentes suínos (BURTON e TURNER, 2003). A relação carbono/nitrogênio é importante no que diz respeito à eficiência na produção de biogás. As bactérias demandam nitrogênio para produzir proteínas e consumir o carbono presente no resíduo e, por isso, deve haver uma proporção correta entre essas duas espécies químicas, que normalmente é da ordem de 20 a 30 partes de carbono para uma de nitrogênio (ARRUDA *et al.*, 2002; SGORLON *et al.*, 2011).

O peso dos porcos influi diretamente sobre a quantidade de dejetos produzida por eles (EMBRAPA, 2003). A água ingerida determina a quantidade de urina e a média de produção de dejetos sólidos pelos suínos é de 2,4 kg por dia. A TABELA 07 mostra a produção dos principais tipos de dejetos produzidos em fazendas de suinocultura, bem como a variação dessa produção em diferentes categorias de porcos.

TABELA 07 – PRODUÇÃO DE DEJETO POR DIFERENTES CATEGORIAS DE SUÍNOS

CATEGORIA	ESTERCO (kg/DIA)	ESTERCO E URINA (kg/DIA)	DEJETOS LÍQUIDOS (L/DIA)	ESTRUTURA PARA ARMAZENAMENTO (m <sup>3</sup> /ANIMAIS.MÊS)	
				ESTERCO + URINA	DEJETOS LÍQUIDOS
25 – 100 kg	2,3	4,9	7,0	0,16	0,25
Porcas de reposição, cobrição e gestantes	3,6	11,0	16,0	0,34	0,48
Porcas em lactação com leitões	6,4	18,0	27,0	0,52	0,81
Macho	3,0	6,0	9,0	0,18	0,28
Leitões	0,35	0,95	1,40	0,04	0,05
Média	2,35	5,8	8,6	0,17	0,27

FONTE: Adaptado de TECPAR (2002)

A remoção de nutrientes de resíduos por microalgas já é executada há anos. Essa técnica é vantajosa frente aos sistemas tradicionais de tratamento como os reatores aeróbios e anaeróbios, que são mais caros, de operação complexa e requerem grandes quantidades de energia para sua utilização (HOFFMANN, 1998; OLGUÍN, 2003; RUIZ *et al.*, 2011). Contudo, a forma utilizada para esse processamento apresenta-se como sistemas abertos, consistindo em lagoas de estabilização contendo as microalgas. Não há nesse processo qualquer controle quanto à contaminação do sistema por protozoários e bactérias e, além disso, nenhuma forma de controle em relação as taxas de aeração, concentração de biomassa produzida ou nutrientes removidos.

Quando não existe uma preocupação na destinação desses efluentes e os dejetos são destinados aos cursos d'água, é comum encontrar grandes quantidades de biomassa de microalgas em áreas de descartes de efluentes. As microalgas produzem oxigênio e fazem com que a velocidade da degradação da matéria orgânica em resíduos seja aumentada (ASLAN e KAPDAN, 2006; BRITO *et al.*, 2007; HODAIFA *et al.*, 2010; HODAIFA, MARTÍNEZ e SÁNCHEZ, 2010).

Nesse contexto, uma alternativa que pode-se mostrar eficaz é a utilização de resíduos de suinocultura na composição e suplementação dos meios de cultivo das microalgas. De acordo com Basso (2003), os sistemas de confinamento utilizados hoje para a criação de porcos estão cada vez mais numerosos, aumentando a chance de contaminação de solos, mananciais de água e recursos naturais. Tais dejetos já são utilizados como aditivo para aumentar a fertilidade de solos destinados a plantações.

Além disso, ao remover nitrogênio, carbono e fósforo da água, as microalgas podem ajudar a diminuir a eutrofização dos ecossistemas aquáticos (RUIZ *et al.*, 2011; OLGUÍN, 2003). Microalgas crescem de maneira considerada rápida e em condições desfavoráveis, como em águas não potáveis e áreas não apropriadas para a produção de alimentos (MATA, MARTINS e CAETANO, 2010; MATA *et al.*, 2011). Desta forma, sistemas produtivos de microalgas destinadas à produção de biomassa para biocombustíveis não enfrentariam as críticas normalmente referenciadas aos biocombustíveis tradicionais como o biodiesel de soja e milho.

## 2.4 FORMAS DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS

Vários artigos, trabalhando com a microalga *Scenedesmus*, descreveram modificações bioquímicas e fisiológicas nas células da microalga em função de alterações no meio de cultivo, ocasionando, desta forma, mudanças nas condições de crescimento e composição da biomassa (McLACHLAN, 1973; NICHOLS, 1973; KIM e GIRAUD, 1989; KIM e SMITH, 2001). Uma grande variedade de meios de cultivo para microalgas foi desenvolvida, podendo ser citados como exemplo o Erdschreiber, Grund, ES, CHU, f/2 e ASP (McLACHLAN, 1973; NICHOLS, 1973). Porém, esses meios apresentam limitações, já que carecem de nutrientes selecionados e necessários para o aumento da produção microalgal em períodos de tempo de longo prazo (KIM e GIRAUD, 1989). Vale lembrar que a maioria dos meios de cultivos de microalgas foram tradicionalmente elaborados para manter as microalgas viáveis em cepários, bem como servir de produção de alimentos para camarões e alevinos. Neste caso, excessos de nutrientes ocasionam toxicidade a esses organismos e a concentração de nutrientes não é adequada para produção de biomassa com foco em produtividade. O custo do meio de cultivo, em função da sua composição, por muitas vezes é cara, dificultando e encarecendo ainda mais o processo de produção de biomassa como um todo. A TABELA 08 mostra a composição química do meio CHU (CHU, 1942) modificado, utilizado para o cultivo de microalgas no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) da Universidade Federal do Paraná.

O custo para a produção de 1000 litros de meio de cultivo CHU modificado é de R\$ 32,02 (valores de 2013).

Existem vários formatos de produção de microalgas. Os principais tipos de sistemas de produção são: tanque aberto, lagoa tipo pista e fotobiorreatores. Os dois primeiros são sistemas abertos enquanto o último é fechado. Esses sistemas de produção diferem entre si em parâmetros como contaminação, evaporação da água, produtividade, custos de processos e operação, entre outros (CHEN *et al.*, 2009).

TABELA 08 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MEIO CHU MODIFICADO

REAGENTE	FÓRMULA	QUANTIDADE (g.L <sup>-1</sup> )
Nitrato de sódio	NaNO <sub>3</sub>	0,25
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,025
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,075
Fosfato de potássio dibásico	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,075
Fosfato de potássio monobásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,175
Cloreto de sódio	NaCl	0,025
Tríplex III/EDTA	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,05
Hidróxido de potássio	KOH	0,031
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO <sub>4</sub>	0,00498
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,01142
Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,82 10 <sup>-6</sup>
Cloreto de manganês tetra-hidratado	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1,44 10 <sup>-6</sup>
Molibdato de sódio	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	1,19 10 <sup>-6</sup>
Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	1,57 10 <sup>-6</sup>
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,49 10 <sup>-6</sup>

FONTE: O autor (2012)

#### 2.4.1 Sistemas abertos

Tanques abertos simulam o habitat natural das microalgas. Possuem variados formatos, sendo o mais comum o de tipo pista de corrida (PULZ, 2001). Esses sistemas são geralmente constituídos por uma única ou múltiplas unidades conjuntas com agitação produzida por meio de uma roda de pás, hélices ou bombas (CHEN *et al.*, 2009). Uma variação desse sistema são as lagoas tipo pista circulares. A FIGURA 02 mostra as formas de lagoas tipo pista e cultivo de tanque aberto.

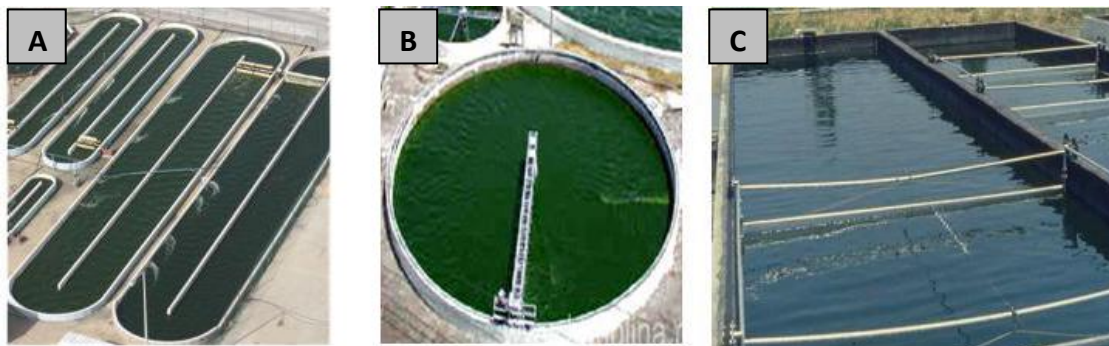


FIGURA 02 – TRÊS PRINCIPAIS SISTEMAS ABERTOS DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS. (A) LAGOAS TIPO PISTA, (B) LAGOA TIPO CIRCULAR, (C) TANQUE ABERTO.

FONTE: Adaptado de Chen *et al.* (2009).

Esse modo de cultivo apresenta problemas técnicos devido às características inerentes do sistema. Dentre eles citam-se as significativas perdas de água por evaporação, a difusão de  $\text{CO}_2$  para a atmosfera, altos índices de poluição e contaminação dos cultivos, baixa difusão da luz solar em todo o cultivo, além da grande área requerida para a instalação desses sistemas (PULZ, 2001). Durante vários anos os sistemas abertos foram os principais meios de cultivo de microalgas (RICHMOND, 1990).

#### 2.4.2 Sistemas fechados

Os sistemas fechados, também conhecidos como fotobiorreatores, possibilitam o controle de quase todos os parâmetros de cultivo e, por consequência, apresentam melhores desempenhos em produção de biomassa de microalga em relação aos sistemas abertos. Dentre eles, pode-se citar: menor risco de contaminação, menores perdas de  $\text{CO}_2$ , maior reprodutibilidade de condições e cultivos, controle de temperatura e design variado de acordo com as necessidades e possibilidades disponíveis (PULZ, 1992). A densidade celular alcançada em cultivos realizados em sistemas fechados é alta devido ao controle relativo que se possui do ambiente de cultivo (LEE, 2001; UGWU, AOYAGI e UCHIYAMA, 2008).

Fotobiorreatores tubulares compactos, construídos com vidro transparente, acrílico ou plásticos são os sistemas fechados de produção em massa de microalgas mais comuns e podem ser horizontais, verticais ou inclinados (UGWU, AOYAGI e UCHIYAMA, 2008). A circulação é realizada por bombas ou pela simples injeção de ar (sistema airlift). A FIGURA 03 demonstra algumas configurações de fotobiorreatores tubulares.

As vantagens de fotobiorreatores tubulares são o melhor aproveitamento da luz, contribuindo para um maior crescimento de células e, por consequência, uma concentração celular muito maior quando comparada a sistemas abertos; maior área iluminada e menores índices de contaminação (CHEN *et al.*, 2009). Dentre as desvantagens pode-se ressaltar as quantidades de oxigênio dissolvido e CO<sub>2</sub> ao longo dos tubos e crescimento e adesão das microalgas às paredes dos tubos (CHEN *et al.*, 2009).

Em reatores fechados, as trocas gasosas são dificultadas devido ao longo tempo que as microalgas levam para atingir a coluna de troca de gases. Por isso, as quantidades de CO<sub>2</sub> ao longo dos tubos podem ser insuficientes para a reação de fotossíntese, causando uma diminuição do crescimento microalgal. A alta quantidade de oxigênio nos cultivos acaba por inibir o processo fotossintético e, por consequência, diminui o crescimento de biomassa das microalgas. O excesso de luz gera excesso de elétrons, os quais reagem com o oxigênio produzido na fotossíntese produzindo radicais livres e outros compostos reativos, como o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (MURATA *et al.*, 2007). Além disso, a luz estimula a formação de oxigênio nascente altamente reativo por fotoativação, resultando na perda de atividade fotossintética e morte celular (TRANTAPHYLIDES *et al.*, 2008; SOUSA *et al.*, 2013).

Os valores relacionados à construção de fotobiorreatores são elevados. Os altos custos de reatores fechados se devem, principalmente, às características dos materiais envolvidos na sua construção (DASGUPTA *et al.*, 2010). Os tubos devem ser transparentes; flexíveis e duráveis; não oferecer toxicidade; resistentes a agentes químicos, metabólitos produzidos pelas microalgas e às condições climáticas (DASGUPTA *et al.*, 2010).



FIGURA 03 – DIFERENTES CONFIGURAÇÕES DE FOTOBIORREADORES TUBULARES.  
 A) PROTÓTIPO MINI-FOTOBIORREATOR B) REATOR TIPO AIRLIFT C)  
 FOTOBIORREATOR DE 10 m<sup>3</sup>

FONTE: O autor (2013)

## 2.5 CULTIVO DE MICROALGAS NO NPDEAS

O Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), situado na Universidade Federal do Paraná, cultiva microalgas com a finalidade de produzir óleo e, posteriormente, biodiesel. O objetivo é ser um

prédio autossustentável, produzindo toda a energia consumida a partir desses micro-organismos.

O núcleo conta com todas as etapas produtivas, desde a coleta de microalgas e manutenção de cepas até o processamento e produção final do óleo obtido das microalgas. Primeiramente, os micro-organismos são cultivados em escala laboratorial para a produção de pré-inóculo. Gradativamente a produção é escalonada até se estabelecer o cultivo nos fotobiorreatores.

Após a coleta, a biomassa microalgal é seca para posterior extração dos lipídeos. Os resíduos dos cultivos são reaproveitados por meio de um biodigestor para a produção de biogás. A FIGURA 04 demonstra um fluxograma das operações realizadas no NPDEAS.

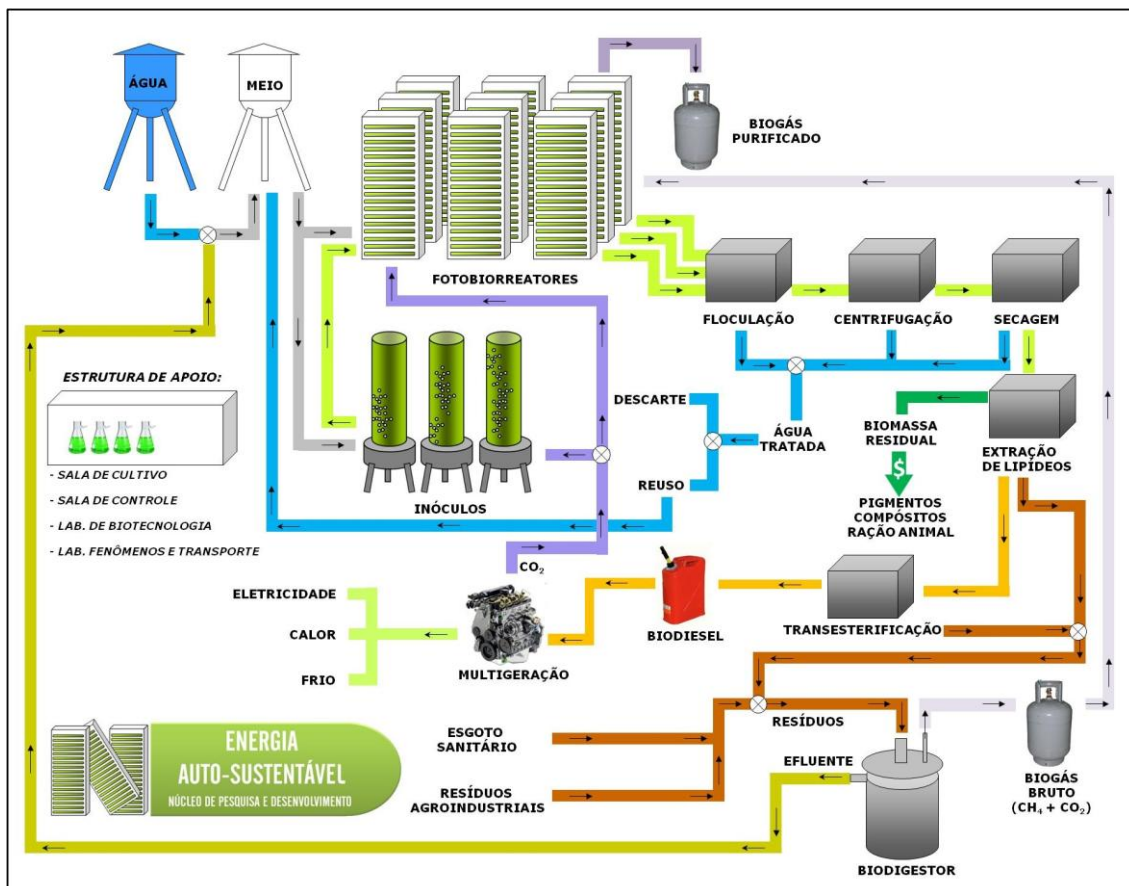


FIGURA 04 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO NPDEAS  
 FONTE: Adaptado de Satyanarayana, Mariano e Vargas (2011).

Os fotobiorreatores situados no NPDEAS são compostos por tubos de PVC transparentes e cada reator possui volume total de 10 m<sup>3</sup>. Os cultivos são desenvolvidos com meios variados, a aeração é realizada por compressores

industriais e a circulação do cultivo é feita por bombas centrífugas. Os fotobiorreatores podem ser observados detalhadamente na FIGURA 03-C e FIGURA 05.



FIGURA 05 – FOTOBIORREATOR DE 10 m<sup>3</sup> SITUADO NO NPDEAS. (A) FOTOBIORREATOR, (B) BOMBA DE CIRCULAÇÃO E COLUNA DE TROCAS GASOSAS, (C) VISÃO DETALHADA DOS RAMAIS.

FONTE: O autor (2011).

O NPDEAS estabeleceu-se como referência no desenvolvimento de fotobiorreatores para produção de biomassa de microalgas. Atualmente são três fotobiorreatores construídos. No total, já foram produzidas 11 dissertações de mestrado, 1 tese de doutorado, 7 artigos em periódicos e mais de 50 trabalhos completos em anais de congressos.

Além dos professores (5), complementam a equipe de pesquisa 2 técnicos, 12 alunos de mestrado, 2 alunos de doutorado, 2 engenheiros, 4 alunos de graduação (iniciação científica), 10 alunos do ensino técnico, uma secretária e uma auxiliar de serviços gerais, totalizando 37 pessoas. A TABELA 09 resume as principais produções científicas desenvolvidas pelo NPDEAS de 2008 a 2013.

TABELA 09 - PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DESENVOLVIDAS PELO NPDEAS DE 2008 A 2013

<b>PATENTES</b>	
Vargas <i>et al.</i> , 2011.	Photobioreactor System (Depósito nos Estados Unidos da América) US2012088296-A1 / WO2012050608-A1.
<b>ARTIGOS</b>	
Ribeiro <i>et al.</i> , 2008.	Transient modeling and simulation of compact photobioreactor.
Torrens <i>et al.</i> , 2008.	Biodiesel from microalgae: the effect of fuel properties on pollutant emissions.
Morais <i>et al.</i> , 2009.	Phaeodactylum tricornutum micralgae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions.
Ribeiro <i>et al.</i> , 2009.	The temperature response of compact tubular microalgae photobioreactors.
Carvalho Júnior <i>et al.</i> , 2011.	Microalgae biodiesel via in situ methanolysis.
Satyanarayana, Mariano e Vargas, 2011.	A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials.
D'Aquino <i>et al.</i> , 2012.	A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012a.	Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012b.	Production of methyl oleate with a lipase from an endophytic yeast isolated from castor leaves.
Oliveira <i>et al.</i> , 2013.	Utilização de resíduos da agroindústria para a produção de enzimas lipolíticas por fermentação submersa.
Silva <i>et al.</i> , 2013.	Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. (aceito para publicação).
Sugai-Guerios <i>et al.</i> , 2013	Mathematical model of the CO <sub>2</sub> solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. (aceito para publicação).
<b>CAPÍTULO DE LIVRO</b>	
Soares <i>et al.</i> , 2010.	Metodologias para obtenção de biomassa e extração de lipídeos de microalgas marinhas. In: Pereira, T. C. G. (Copel - Paraná). Dossiê de Pesquisa Fontes Renováveis de Energia.

FONTE: O autor (2013)

### 3 DESAFIOS E OBJETIVOS

A revisão bibliográfica apresentou as formas de cultivo de microalgas para a produção de biocombustíveis. Apesar das potenciais vantagens apresentadas por esses micro-organismos para essa finalidade, se faz necessário aprimorar e/ou desenvolver processos e tecnologias que diminuam os custos envolvidos em sua produção. A separação da biomassa do meio de cultivo e a extração do óleo e síntese do biodiesel correspondem a aproximadamente 30% dos custos no processo de produção de microalgas, além de demandarem grandes quantidades de energia, prejudicando o balanço energético da produção do biocombustível. Além disso, fatores como diminuição da contaminação dos cultivos, melhores adaptações e projetos de designs de reatores que objetivem a maximização de ganho de biomassa microalgal, prospecção de espécies robustas e com alto teor lipídico e simplificação e diminuição de custos envolvidos na extração do óleo e síntese do biodiesel devem ser observados e otimizados.

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Dentre os desafios apresentados, selecionou-se o de avaliar a utilização de resíduo agroindustrial (efluente de suinocultura) para produção de biomassa de microalgas e a consequente remoção de nitrogênio e fósforo desse resíduo.

##### 3.1.1 Metas

Para atingir o objetivo geral, o trabalho foi dividido nas seguintes metas:

1. Coletar e caracterizar o resíduo suíno biodigerido;
2. Avaliar o crescimento das microalgas frente ao resíduo suíno em pequena escala no laboratório e determinar melhor condição de cultivo;
3. Produzir biomassa de microalgas em fotobiorreator tipo Airlift de 12 L em condições externas avaliando produtividade em biomassa, óleo e composição de lipídeos;
4. Avaliar a eficiência de biorremediação do resíduo suíno em relação aos parâmetros fosfatos e nitrogênio total, orgânico e amoniacal;
5. Extrair lipídeo da biomassa cultivada, determinar sua composição e produzir biodiesel por meio de esterificação enzimática.

A FIGURA 06 relaciona as metas estabelecidas com as respectivas estratégias para se alcançar o objetivo proposto.

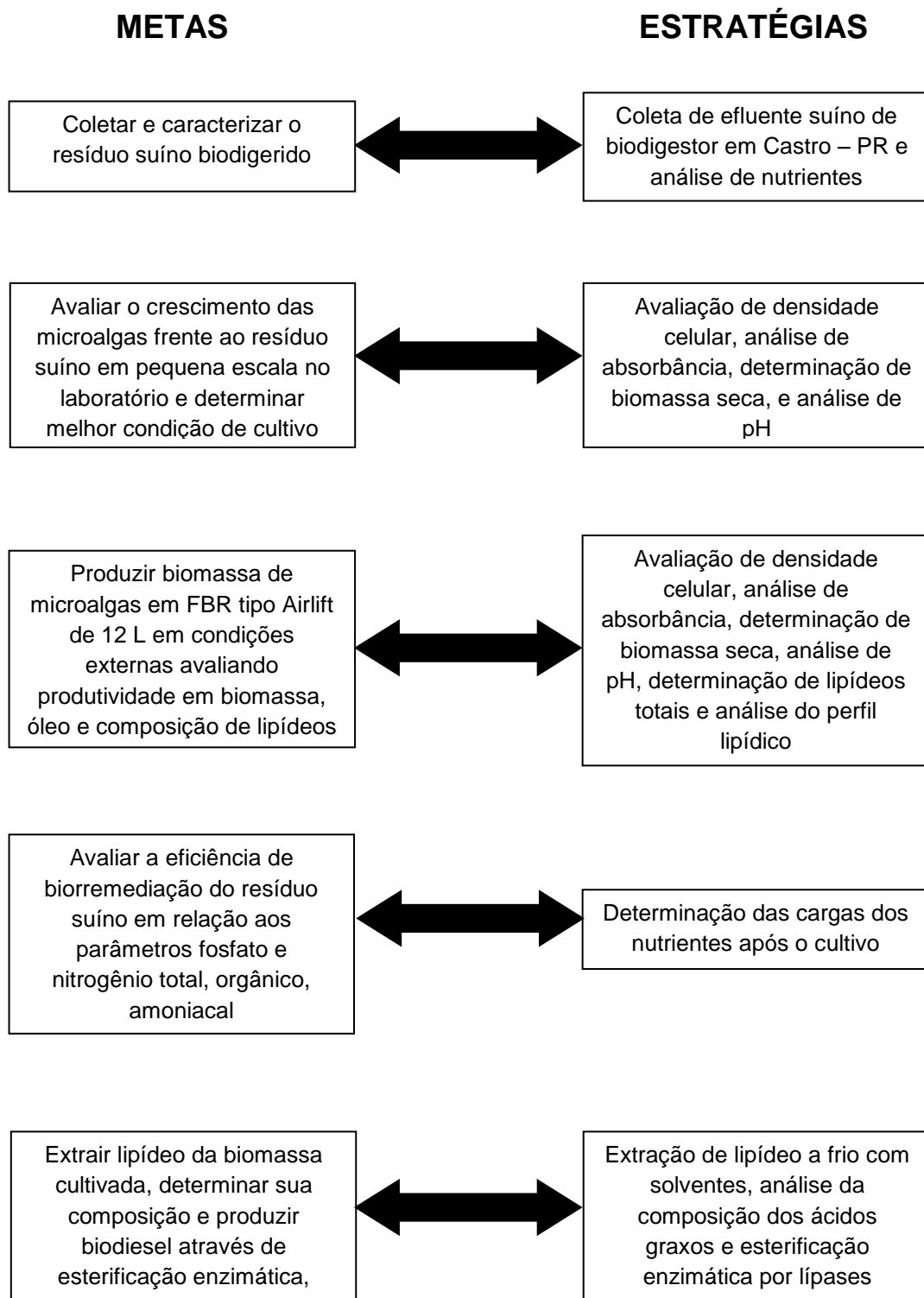


FIGURA 06 – FLUXOGRAMA DAS METAS E ESTRATÉGIAS DE TRABALHO

FONTE: O autor (2012)

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 SELEÇÃO DAS MICROALGAS

A microalga *Scenedesmus sp* utilizada nesse trabalho foi isolada e obtida a partir da água da rede de abastecimento local. Em teste hidrostático realizado nos fotobiorreatores do NPDEAS, na Universidade Federal do Paraná, sem qualquer adição de nutrientes ou inoculo, a microalga *Scenedesmus sp* foi naturalmente selecionada. A manutenção e repique das cepas foram realizados em sala de cultivo climatizada, podendo ser observada na FIGURA 07.

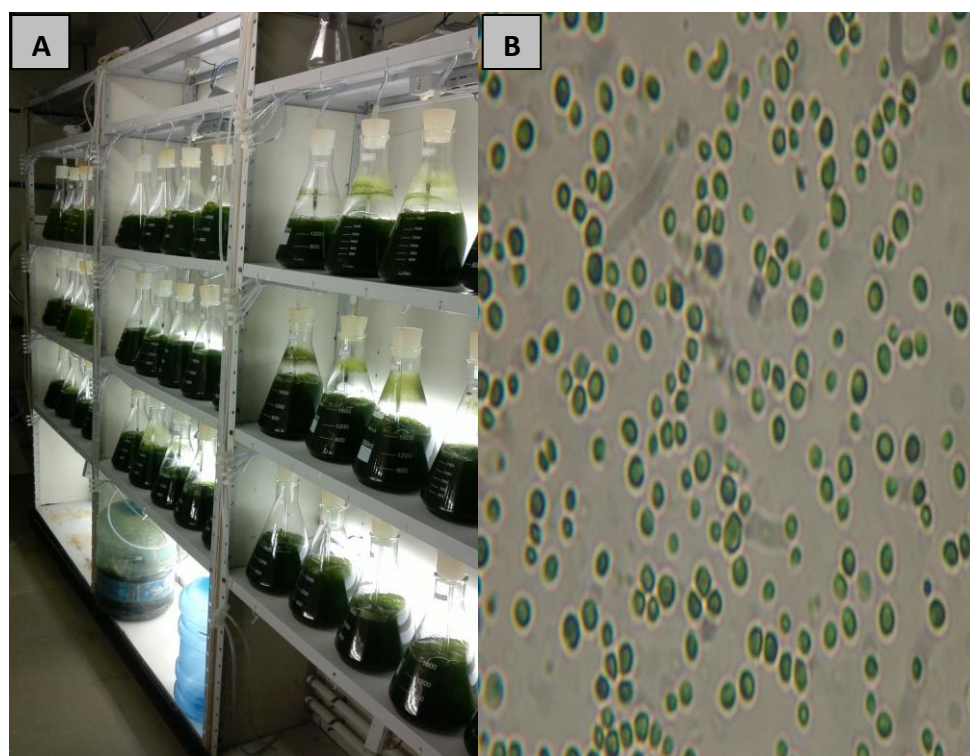


FIGURA 07 – SALA DE CULTIVO. (A) VISÃO GERAL DA SALA, (B) MICROGRAFIA DA MICROALGA *Scenedesmus sp* COM AUMENTO DE 400X

FONTE: O autor (2012)

## 4.2 COLETA E MANUTENÇÃO DO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO

O dejetos suíno (40 L) foi coletado de biodigestor de uma propriedade particular situada em Castro-PR e acondicionado em freezer em garrafas plásticas de 500 mL. A FIGURA 08-A mostra o local da coleta. As amostras ficaram acondicionadas pelo período médio de 3 meses. Foram realizadas três diluições distintas para os experimentos realizados com o efluente. O dejetos foi diluído em água destilada nas proporções de 5%, 10% e 30% v/v. O efluente suíno bruto foi submetido à análise de cargas de fosfato, nitrato, nitrito, nitrogênio total, nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal para posterior avaliação do grau de biorremediação.



FIGURA 08 – BIODIGESTOR DE ONDE FOI COLETADO O EFLUENTE SUÍNO (CASTRO – PR). (A) BIODIGESTOR TIPO LAGOA COBERTA, (B) EFLUENTE BIODIGERIDO COLETADO EM LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO

FONTE: O autor (2012)

#### 4.3 MEIO DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Os cultivos foram realizados em escala laboratorial (frascos tipo Erlenmeyer contendo aeração) e em reator tipo airlift de 12 L com meio CHU modificado (TABELA 04), havendo a substituição de óxido de molibdênio por molibdato de sódio. Levando em consideração as características do resíduo suíno, a formulação de meio de cultivo utilizando o dejetto biodigerido foi realizada nas seguintes proporções: 5%, 10% e 30% v/v. A escolha das diluições foi baseada em experimentos prévios no laboratório do NPDEAS, que levaram em consideração a turbidez do meio e as quantidades de fosfato e nitrogênio total em comparação ao meio sintético CHU. Diluições do dejetto biodigerido acima de 30% não resultaram em crescimento de microalgas. A TABELA 10 demonstra a quantidade de nitrogênio e fosfato em cada diluição proposta. Todos os cultivos foram realizados em batelada.

TABELA 10 – PROPORÇÕES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO INICIAIS DOS CULTIVOS COM RESÍDUO SUÍNO

DILUIÇÕES	FOSFATO (mg P.L <sup>-1</sup> )	NITROGÊNIO ORGÂNICO (mg.L <sup>-1</sup> )	NITROGÊNIO AMONÍACAL (mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup> )	NITROGÊNIO TOTAL (mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup> )
5%	3,7	20,9	109,4	130,3
10%	7,4	41,9	218,8	260,6
30%	22,3	125,6	656,4	781,9
CHU	61,6	-	-	41,2*

FONTE: O autor (2013)

NOTA: \*concentração de nitrogênio em nitrato de sódio

Os cultivos realizados em escala laboratorial ocorreram em frascos Erlenmeyer de 2 L, utilizando um volume inicial de 1,6 L em cada frasco, composto por 400 mL de inóculo com uma concentração de  $200 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>; aproximadamente 100 mL de soluções-estoque de meio de cultivo autoclavadas e 1100 mL de água destilada esterilizada. Nos experimentos com efluente suíno, as soluções estoque autoclavadas e a água destilada foram substituídas pelas diluições do dejetto biodigerido nas proporções 5%, 10% e 30% v/v. Os frascos foram mantidos sob constante iluminação (2 lâmpadas de

40 W cool daylight), sem fotoperíodo, sob aeração contínua utilizando compressor da marca Schulz com injeção de ar à vazão de 2 litros.minuto<sup>-1</sup> e sob a temperatura de 17 °C. A FIGURA 09 apresenta a disposição dos frascos de cultivo. Todas as condições foram realizadas em triplicatas e, assim, para cada experimento foram realizados 12 cultivos independentes. Os cultivos foram realizados em batelada.



FIGURA 09 – DISPOSIÇÃO DOS CULTIVOS EM ESCALA LABORATORIAL  
FONTE: O autor (2012)

Os cultivos em reatores airlift foram realizados ao ar livre e demandaram um volume aproximado de 2 L de inóculo com uma concentração inicial da ordem de  $250 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> realizados em meio de cultivo CHU modificado e dejetos suíno na diluição de 10% v/v, totalizando 11 L de cultivo. A aeração e agitação foram realizadas com ar atmosférico utilizando compressor da marca Schulz, com vazão de ar de aproximadamente 4 L.min<sup>-1</sup>. A FIGURA 10 mostra a configuração dos cultivos. Os cultivos foram realizados em triplicata. De acordo com a experiência de cultivos anteriores realizados no NPDEAS, estabeleceu-se período de 15 dias de cultivo para avaliação dos

parâmetros de cultivo. Ao final dos 15 dias as microalgas encontram-se na fase estacionária.



FIGURA 10 – CULTIVOS EM REATORES TIPO AIRLIFT  
FONTE: O autor (2012)

#### 4.4 AVALIAÇÃO DO CULTIVO

A avaliação dos cultivos foi realizada em função da determinação dos seguintes parâmetros: determinação da densidade celular, análise espectrofotométrica, análise e quantificação de biomassa seca, análise e determinação da quantidade de lipídeos totais e determinação de pH.

##### 4.4.1 Determinação da densidade celular

A densidade celular dos cultivos foi determinada por meio de contagens em microscópio óptico com aumento de 400X, com o auxílio de

câmaras de Neubauer e realizados ao longo dos dias de cultivo (LOURENÇO, 2006). As contagens sempre foram realizadas em triplicata. O resultado foi representado como a média  $\pm 2$  vezes o desvio padrão. Os resultados foram representados em números de células por mililitros de cultivo (cél.mL<sup>-1</sup>). Essa metodologia permite a identificação da fase estacionária e determinação do período de acúmulo de lipídeos pelas células. A FIGURA 11 demonstra uma curva típica do crescimento das microalgas. Nesse gráfico é possível observar as distintas fases do crescimento dos micro-organismos em cultivos do tipo batelada, que consistem em: fase de adaptação ou fase lag, fase de crescimento exponencial, fase de crescimento linear, fase estacionária e fase de declínio ou morte celular.

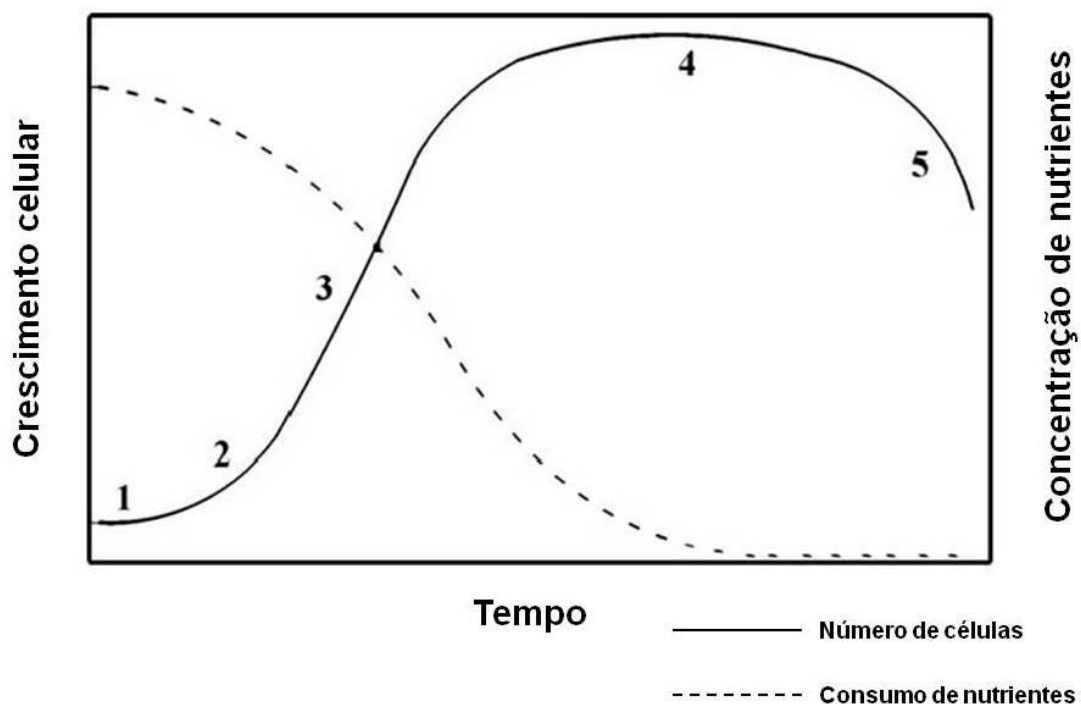


FIGURA 11 – CURVA TÍPICA DE CRESCIMENTO CELULAR. (1) FASE LAG, (2) FASE DE CRESCIMENTO EXPONENCIAL, (3) FASE DE CRESCIMENTO LINEAR, (4) FASE ESTACIONÁRIA, (5) FASE DE DECLÍNIO  
 FONTE: Adaptado de Mata, Martins e Caetano (2010)

#### 4.4.2 Determinação da Absorbância

A determinação da absorbância dos cultivos foi realizada em espectrofotômetro da marca Perkin-Elmer utilizando o software Lambda 25 - UV/VIS Spectrometrer com cubetas de caminho óptico de 1 cm e comprimento de onda de 540 nm. A água destilada foi utilizada como “branco” para zerar a leitura do equipamento. Pela análise de absorbância pode-se determinar a turbidez dos cultivos, indicando maior ou menor presença de células e biomassa de microalgas. Como visto na FIGURA 08-B, o efluente suíno possui natureza escura. Os cultivos realizados com o resíduo apresentaram coloração mais turva de acordo com a proporção de diluição em água. Por esse motivo, para a obtenção de dados de aumento real desse parâmetro, descontou-se o valor inicial da absorbância de cada ponto da curva em todos os cultivos, incluindo o cultivo controle ( $\Delta$  de absorbância).

Para se evitar distorções nas leituras e interpretações incorretas dos dados, quando a medida de absorbância resultou valor superior a 0,5 realizou-se diluições para se atingir a faixa de 0,1 a 0,5. Isso consiste em uma prática comumente realizada para determinação de absorbância quando se realiza estimativa do crescimento celular com micro-organismos.

#### 4.4.3 Determinação de biomassa seca

A determinação de biomassa seca ( $\text{g.L}^{-1}$ ) foi realizada diariamente por metodologia gravimétrica, sempre em triplicata, em todos os cultivos. Foram utilizados microfiltros de fibra de vidro Macherey-Nagel GF-1, diâmetro de 47 mm para filtragem utilizando bomba a vácuo. Primeiramente, os microfiltros foram levados à estufa com temperatura de 60 °C até atingirem massa constante para a retirada de sua umidade natural. A massa dos microfiltros secos foi aferida.

Depois disso, três amostras de 10 mL dos cultivos foram retiradas e filtradas separadamente. Os microfiltros com as amostras foram levados à estufa a temperatura de 60 °C até atingirem massa constante. O aparato de filtração, consistindo de bomba, filtro, membrana e filtrado pode ser observado na FIGURA 12. As massas foram aferidas em balança analítica.



FIGURA 12 – SISTEMA DE FILTRAÇÃO  
FONTE: O autor (2012)

O cálculo do método gravimétrico utilizado para mensuração da biomassa seca em gramas por litros ( $\text{g.L}^{-1}$ ) foi:

$$Bs(\text{g.L}^{-1}) = \frac{F_2 - F_1}{V} \quad (1)$$

em que:

$Bs$  – biomassa seca da amostra ( $\text{g.L}^{-1}$ );

$F1$  – massa do microfiltro seco (g);

$F_2$  – massa do microfiltro com biomassa seca (g);

$V$  – volume de cultivo filtrado (L).

O efluente suíno apresenta grande quantidade de sólidos totais em sua composição. Para uma avaliação mais correta do crescimento de biomassa, o valor de biomassa seca inicial de cada cultivo foi subtraído das respectivas medidas diárias desse parâmetro ( $\Delta$  de biomassa). Desta forma, eliminando-se a interferência dos sólidos totais presentes no resíduo nas diferentes concentrações trabalhadas, está sendo considerada apenas a biomassa produzida pelos cultivos.

#### 4.4.4 Determinação de lipídeos totais

Para o cálculo e mensuração dos lipídeos totais dos cultivos foi realizada a metodologia de extração a frio desenvolvida por Bligh e Dyer (1959) e adaptada de Rodríguez *et al.* (2007). Para a extração dos lipídeos utilizou-se uma solução de metanol e clorofórmio. As análises foram realizadas em triplicata.

Em cada uma das triplicatas, foram maceradas e aferidas a massa de 50 mg de biomassa seca anteriormente em estufa até massa constante. Após, foram colocadas em tubos de polipropileno de 15 mL. A cada uma das amostras foi adicionado 3 mL da solução de clorofórmio:metanol (2:1, v:v) e 10  $\mu$ L de solução de butilhidroxi tolueno (BHT) 1% em metanol, como proteção antioxidante e preservação da estrutura dos lipídeos poli-insaturados. Após, as amostras foram submetidas por 3 ciclos de 15 minutos em banho de ultrassom (Unica Ultra Cleanner 1400, frequência de 40 kHz). As amostras foram envoltas em papel alumínio para proteção contra a luz e evitar a foto-degradação do material. Após, foram incubadas a 4 °C por 24 horas para favorecer e aumentar a extração de lipídeos.

Em seguida, as amostras foram submetidas a mais 3 ciclos de 15 minutos em banho no ultrassom e depois centrifugadas por 20 minutos a

5000 rpm e 5 °C. O sobrenadante foi recuperado e reservado. Adicionou-se 1,5 mL da solução de clorofórmio:metanol 2:1 v/v à biomassa, que foi sedimentada após a centrifugação e essa mistura foi novamente centrifugada nas condições anteriores. A fase líquida foi recuperada e adicionada ao reservado.

Por fim, adicionou-se 2 mL de água destilada e 1 mL de clorofórmio ao reservado, agitou-se e centrifugou-se as amostras a 5000 rpm por 10 minutos a 5 °C. A fase inferior foi recuperada e reservada em *vial* de massa conhecida. A fase aquosa foi lavada com 1 mL de clorofórmio, agitada e centrifugada nas mesmas condições anteriores. A fase inferior foi transferida ao *vial* e este foi levado à capela de exaustão, onde permaneceu até que todo o solvente evaporasse. A seguir o *vial* teve sua massa novamente quantificada. A FIGURA 13 representa o fluxograma referente à extração dos lipídeos. O cálculo do método gravimétrico utilizado para a mensuração de lipídeos foi:

$$\text{Lipídeos totais (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(V_2 - V_1) \cdot B}{C} \cdot 1000 \quad (2)$$

em que:

$V_1$  – massa do *vial* vazio (g);

$V_2$  – massa do *vial* com lipídeos (g);

$B$  – biomassa seca do cultivo (g.L<sup>-1</sup>);

$C$  – biomassa seca (g);

A determinação do teor de lipídeos em porcentagem consistiu em:

$$\text{Lipídeos totais (\%)} = \frac{(V_2 - V_1) \cdot 100}{C} \quad (3)$$

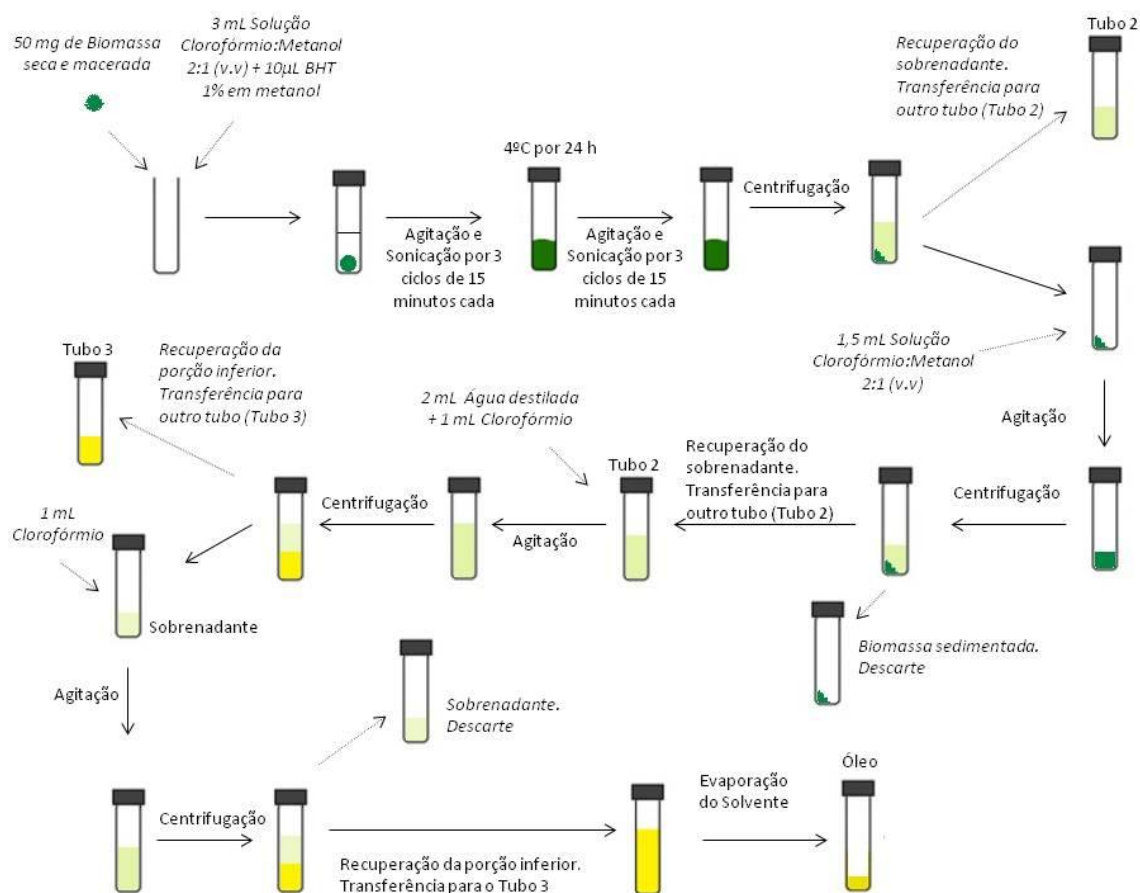


FIGURA 13 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO A FRIO DE LIPÍDEOS PARA DETERMINAÇÃO ANALÍTICA  
 FONTE: O autor (2013)

#### 4.4.5 Determinação do pH dos cultivos

O pH dos cultivos foi determinado diariamente em pHmetro digital da marca Gehaka PG 1800. Microalgas e organismos fotossintetizantes necessitam de dióxido de carbono para o processo de fotossíntese e produção de seu próprio alimento. A análise do pH é importante para avaliar indiretamente o consumo de CO<sub>2</sub> pelas microalgas fornecido no processo de aeração. O gás carbônico confere uma natureza ácida aos cultivos e à medida que o pH se eleva a disponibilidade de dióxido de carbono diminui, normalmente relacionado a uma grande presença de células e, conseqüentemente, uma maior demanda pelo gás citado.

#### 4.5 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA

Para a separação da biomassa microalgal do meio de cultivo foi utilizado o método de floculação química por cloreto férrico heptahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). As condições de agitação foram: agitação rápida (500 rpm) por 2 minutos, agitação lenta (250 rpm) por 5 minutos e período de sedimentação de 24 horas. A quantidade de cloreto férrico adicionada foi a necessária para se obter uma solução final de cultivo + floculante de  $0,3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . A FIGURA 14 mostra as etapas antes, durante e depois do processo de floculação.

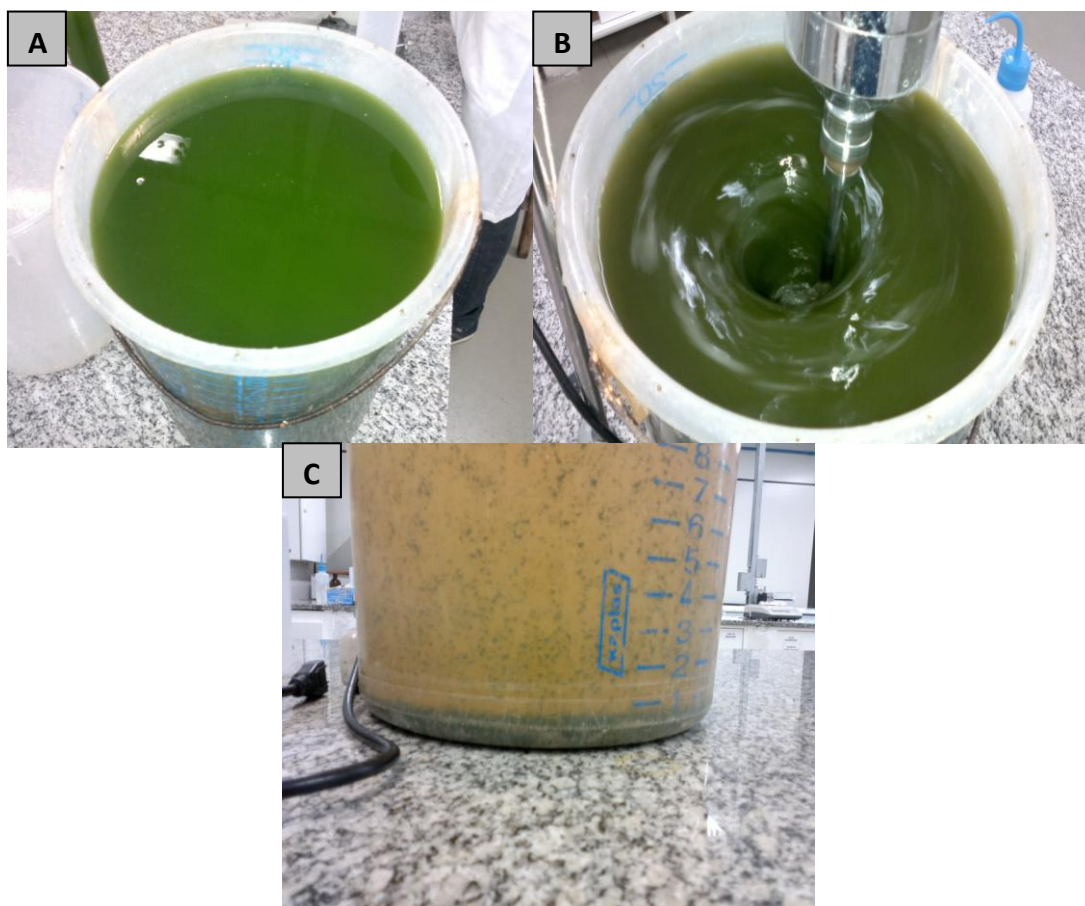


FIGURA 14 – PROCESSO DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA. (A) ANTES, (B) ADIÇÃO DE CLORETO FÉRRICO HEPTAHIDRATADO E AGITAÇÃO, (C) MICROALGAS FLOCULADAS

FONTE: O autor (2013)

A biomassa concentrada de microalgas foi filtrada em papel filtro quantitativo de poros de  $8 \mu\text{m}$  e levada à estufa com temperatura de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  por

24 horas para secagem até massa constante. A biomassa seca foi então submetida à extração de óleo para a síntese do biodiesel.

#### 4.6 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO DO ÓLEO DE MICROALGAS

Após a determinação da melhor condição de cultivo em escala laboratorial, o experimento conduzido em reator airlifting (11 L) forneceu biomassa suficiente para extração do óleo e posterior síntese de biodiesel. Uma amostra de óleo isolada dessa biomassa foi submetida à análise para investigação do perfil lipídico e presença de ácidos graxos (ANEXO 01). A análise foi realizada pelo CEPPA (Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos) da Universidade Federal do Paraná por meio de cromatografia gasosa.

Os ácidos graxos da biomassa foram extraídos por saponificação. A biomassa contendo cerca de 80% de umidade foi diretamente saponificada na presença de NaOH (0,25 g.g de biomassa<sup>-1</sup>) e etanol (96,5% v/v – 10 mL.g<sup>-1</sup> de biomassa), e agitada em Shaker durante uma hora a 180 rpm e 60 °C utilizando metodologia aprimorada por Schroeder *et al.* (2011).

Depois disso, realizou-se hidrólise ácida com a adição de HCl concentrado à solução alcoólica até pH 1,0 para liberação dos ácidos graxos livres. Desse meio os ácidos graxos foram obtidos através de extração utilizando hexano. O solvente foi posteriormente evaporado e os ácidos graxos isolados.

#### 4.7 SÍNTESE DO BIODIESEL

A síntese do biodiesel a partir dos ácidos graxos das microalgas por saponificação foi realizada por método enzimático utilizando lipases fúngicas

de *Penicillium sumatrense* e *Aspergillus fumigatus*, gentilmente cedidas pela biotecnóloga Anne Caroline Defranceschi Oliveira. Tais enzimas foram cultivadas por Fermentação em estado sólido (FES), utilizando semente de girassol como substrato. O sólido fermentado passou por processo de delipidação a fim de impedir a interferência do material graxo presente no sólido fermentado nas reações de síntese.

Para delipidação, o sólido fermentado foi seco e submetido à extração do material graxo através da adição de 10 mL de hexano para cada grama de sólido fermentado seco e incubados em shaker a 180 rpm e temperatura ambiente por 1 hora.

Após a delipidação obteve-se o extrato bruto enzimático pela adição de 5 mL de solução de NaCl 1% para cada grama de substrato sólido, sendo este mantido em agitação por 1 hora a 100 rpm. Filtrou-se e centrifugou-se a 2000 rpm por 8 min, desprezando-se o precipitado. Com o meio fermentado recuperado, o extrato bruto foi liofilizado.

A esterificação dos ácidos graxos de microalgas foi realizada em frascos erlenmeyers de 125 mL, contendo um volume reacional de 10 mL. Em cada frasco foram adicionados o sólido fermentado numa proporção equivalente a 60 U (unidade de atividade enzimática), 50 mmol.L<sup>-1</sup> de ácido graxo, 450 mmol.L<sup>-1</sup> de metanol e 10 mL de hexano. As reações foram incubadas em Shaker a 30 °C e 180 rpm, e acompanhadas por 12 horas.

Para a determinação da conversão de ácidos graxos em ésteres foi utilizado um método espectrofotométrico descrito por Lowry e Tinsley (1976). Este método foi usado previamente em trabalhos descritos na literatura, e apresentou grande precisão na quantificação de ácidos graxos, demonstrados pelo acompanhamento simultâneo da quantificação dessas substâncias através de cromatografia gasosa (BARON *et al.*, 2005; FERNANDES *et al.*, 2007).

Essa metodologia baseia-se na ligação entre os ácidos graxos livres e os íons Cobre II em meio orgânico, possibilitando a avaliação do percentual de ácidos graxos convertidos a ésteres. Desta forma, o acompanhamento da reação de conversão de ácidos graxos em ésteres fundamentou-se no acompanhamento do desaparecimento do substrato no meio reacional. Quando a quantidade de ácidos graxos diminui em 100%, considerou-se que a reação

teve 100% de conversão à biodiesel (metil ésteres). Assim sendo, para a realização das análises, a quantidade de 0,2 mL do meio reacional foram adicionados a 2,4 mL de tolueno e 0,5 mL da solução de piridina e acetato de cobre (5%). As reações foram agitadas em vórtex por 30 segundos e a fase orgânica lida em espectrofotômetro em 715 nm.

#### 4.8 ANÁLISE DA BIORREMEDIAÇÃO DO RESÍDUO SUÍNO

Após o processo de separação e floculação química do cultivo de microalgas (descrito no item 4.5), o sobrenadante e o efluente suíno bruto foram submetidos à análise de cargas de fosfato, nitrato, nitrito, nitrogênio total, nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal para determinação de remoção de matéria orgânica e biorremediação do resíduo suíno pelas microalgas (ANEXO 02 e ANEXO 03).

#### 4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores gráficos de densidade celular, biomassa seca, absorvância e pH apresentados nessa dissertação são as médias das triplicatas das amostras de cada experimento  $\pm$  duas vezes o desvio padrão. O desvio padrão foi multiplicado por 2 para abranger 95% de confiabilidade das amostras considerando uma distribuição normal, conforme a FIGURA 15.

Para verificar se houve diferença estatística entre os valores obtidos em todos os parâmetros foi realizada a análise de variância pelo “teste t” com o auxílio do software ASSISTAT, versão 7.6 beta. O “teste t” foi aplicado ao nível de 95% de confiabilidade de diferença estatística ( $p < 0,05$ ). Os pontos assinalados com asterisco (\*) nos gráficos demonstram que houve diferença estatística entre as condições comparadas.

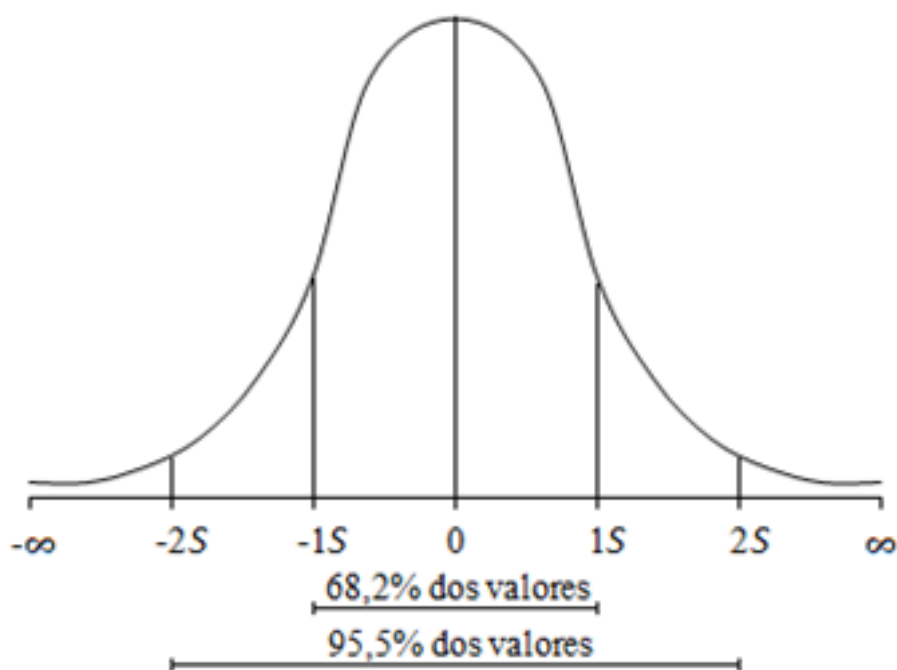


FIGURA 15 – REPRESENTAÇÃO NORMAL SIMÉTRICA  
FONTE: Adaptado de Rodrigues (2008)

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microalga *Scenedesmus sp.* foi cultivada em batelada por períodos de até 15 dias em escala laboratorial sob condições controladas e em reatores airlifting expostos a condições ambientais, ou seja, sem controle de temperatura e luminosidade. Nos cultivos de escala laboratorial foram realizadas diariamente contagens celulares, quantificação de biomassa seca e análises dos valores de pH. A mesma metodologia foi aplicada ao experimento realizado no reator airlift e, além disso, avaliou-se a produtividade em lipídeos e em biomassa. O óleo isolado por saponificação foi utilizado para a síntese enzimática de biodiesel.

### 5.1 VERIFICAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DE DILUIÇÃO DO EFLUENTE SUÍNO PARA CULTIVO DAS MICROALGAS

De acordo com a metodologia estabelecida, verificou-se a melhor condição de diluição do dejetos. Inicialmente, o resíduo foi autoclavado e congelado a fim de garantir a não interferência e degradação do mesmo por micro-organismos. Porém, esse processo tornou o efluente muito escuro e a alta turbidez do resíduo fez com que o processo de fotossíntese pelas microalgas fosse dificultado, resultando em fracasso e morte das células. A FIGURA 16 mostra o aspecto do dejetos após a esterilização com temperatura e pressão (autoclave 121 °C, 2 atm, 15 min). Foram realizados cinco cultivos em laboratório (resultados não mostrados) sob essa condição para verificação desse fator limitante.



FIGURA 16 – EFLUENTE SUÍNO APÓS O PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO  
FONTE: O autor (2012)

Com isso, utilizou-se o resíduo suíno sem nenhum pré-tratamento nas diluições propostas e com o meio de cultivo CHU modificado como controle. O inóculo de todos os experimentos em escala laboratorial deste trabalho foi padronizado a  $200 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ , de acordo com Soares (2010), representando aproximadamente  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de biomassa seca. Os resultados em escala laboratorial de densidade celular podem ser vistos na FIGURA 17. Os melhores valores foram obtidos na diluição de dejetos a 10%. Ao final dos 15 dias de cultivo, o número de células obtido foi de  $1259 \pm 80 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ . Esse resultado se mostrou ligeiramente superior ao do controle, que atingiu  $1149 \pm 70 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ .

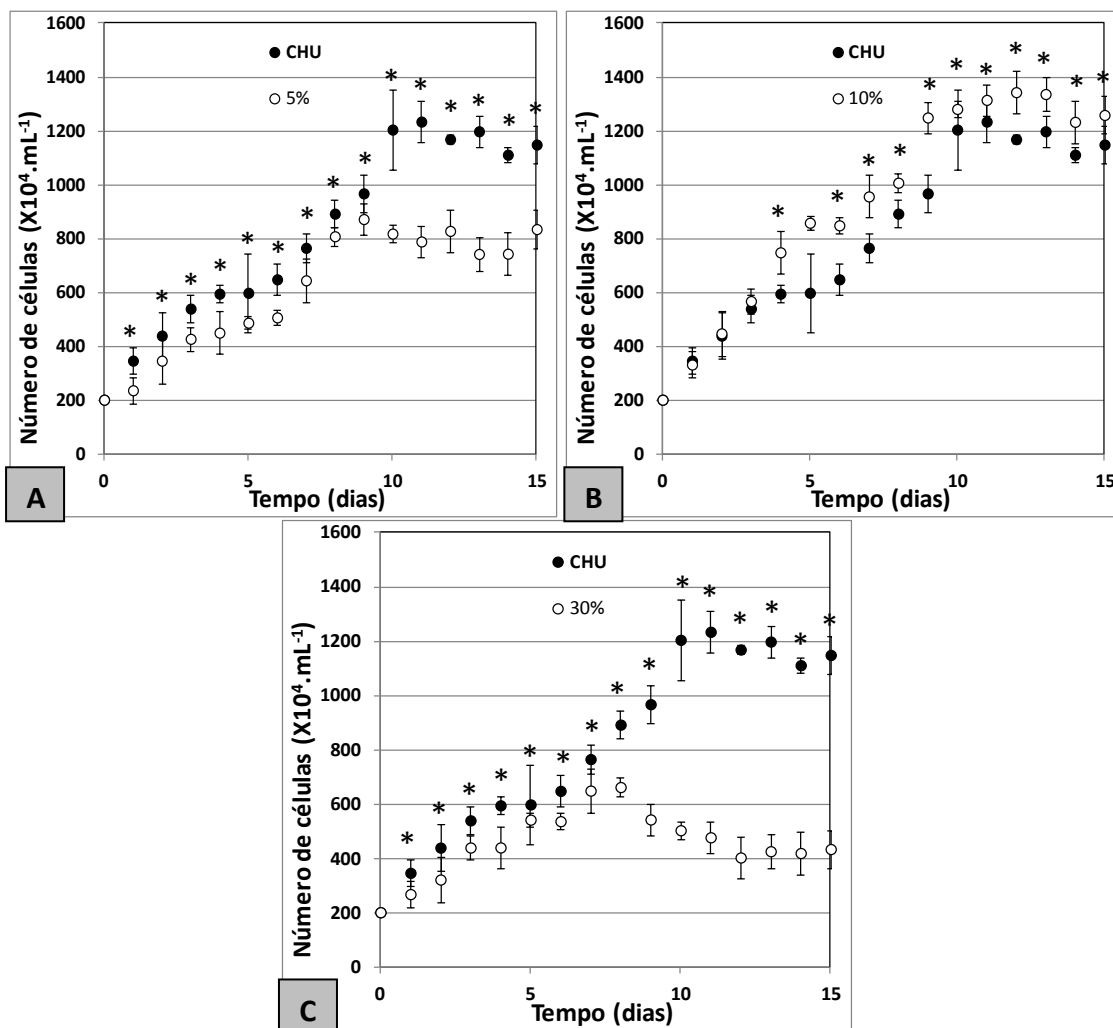


FIGURA 17 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE DENSIDADE CELULAR DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%

FONTES: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados sem fotoperíodo (24 h de luz), 17 °C, aeração de 2 L.minuto<sup>-1</sup> em reator tipo erlenmeyer de 2 L (1,6 L de volume útil). \* apresenta diferença estatística com  $p < 0,05$

A FIGURA 17 mostra também a evolução da densidade celular ao longo dos dias das outras duas diluições (5% e 30%). No nono dia de cultivo obteve-se o melhor resultado na diluição 5%:  $873 \pm 57 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ ; e, ao final do cultivo a densidade celular foi de  $835 \pm 70 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ . Já na diluição de 30% o melhor resultado foi obtido no oitavo dia, com  $663 \pm 107 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ , e, ao fim dos 15 dias de cultivo,  $434 \pm 59 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ , demonstrando a pouca eficiência de tal diluição.

Para uma representação mais exata dos dados de crescimento das microalgas, também analisou-se o acúmulo de biomassa dos micro-organismos ao longo dos dias de cultivo, podendo ser observado na FIGURA 18.

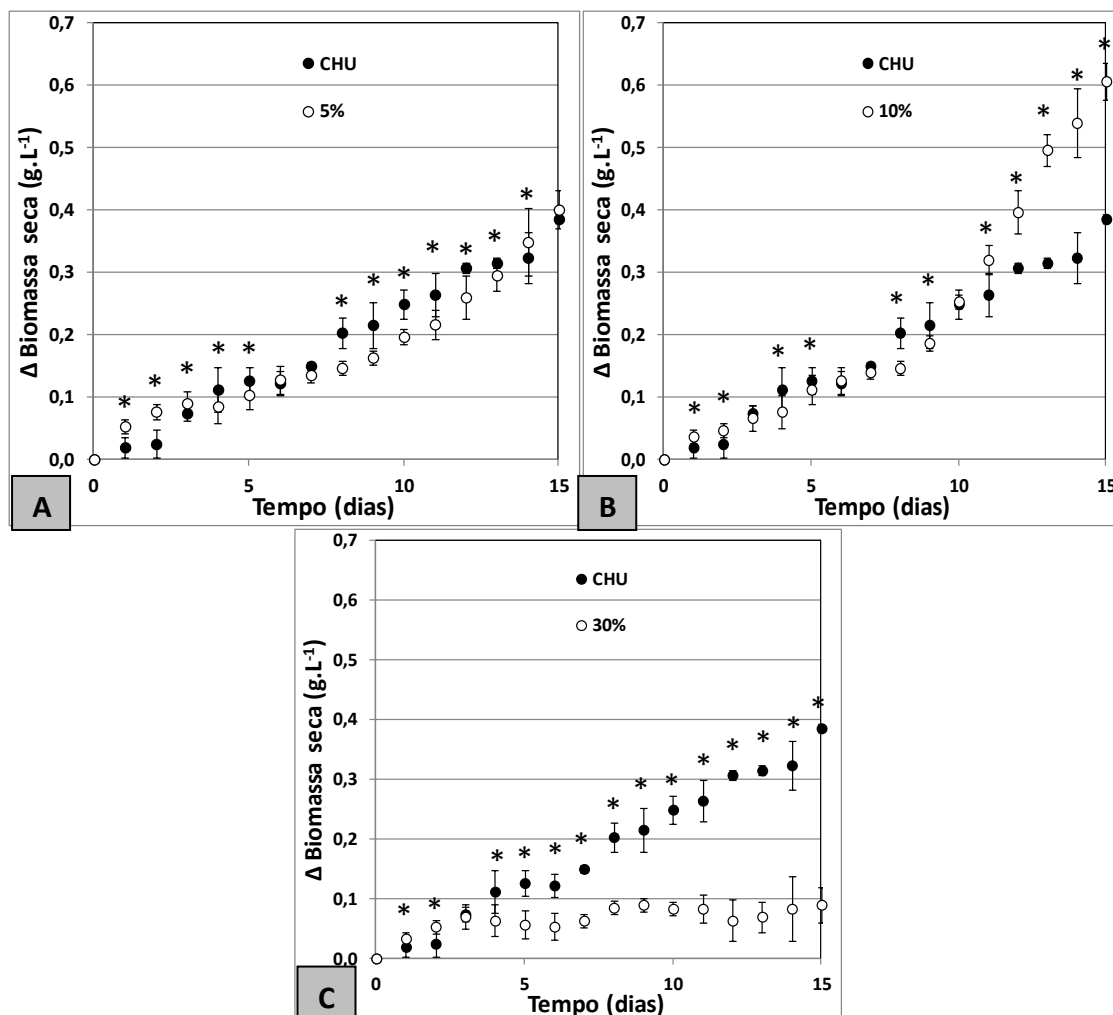


FIGURA 18 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados sem fotoperíodo (24 h de luz), 17 °C, aeração de 2 L.minuto<sup>-1</sup> em reator tipo erlenmeyer de 2 L (1,6 L de volume útil). \* apresenta diferença estatística com  $p < 0,05$

Como o meio de cultivo preparado com efluente suíno apresenta uma quantidade grande de sólidos totais, a biomassa seca no tempo zero apresentou valores entre 0,24  $\text{g.L}^{-1}$  a 0,30  $\text{g.L}^{-1}$ . Desta forma, para avaliar a produção de biomassa de microalgas nesses experimentos, o valor de biomassa seca inicial foi subtraído de todos os pontos obtidos e, assim, os

valores representados no gráfico correspondem apenas à biomassa produzida pelos cultivos, já que a interferência dos sólidos totais presentes em quantidades diferentes para cada diluição é eliminada.

Ao final dos 15 dias de cultivo, o experimento com o dejetos diluído a 10% apresentou aumento de biomassa de  $0,61 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ . Esse desempenho mostrou-se melhor quando comparado ao do meio de cultivo controle, que apresentou aumento de  $0,39 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ . Já a diluição de 5% obteve desempenho semelhante ao meio sintético ( $0,40 \pm 0,03 \text{ g.L}^{-1}$ ) e a diluição de 30% atingiu o valor de  $0,09 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ , o mais baixo entre os testados. Destaca-se o crescimento de biomassa superior apresentado pelo meio de cultivo com efluente suíno diluído a 10%. Produziu-se mais microalgas com custos baixos quando comparados ao valor do meio de cultivo sintético.

Na análise espectrofotométrica, realizada com comprimento de onda de 540 nm, a diluição de 10% obteve desempenho semelhante ao meio de cultivo controle e melhor frente às outras condições testadas. Quanto maior a absorvância, maior a presença de células e biomassa de microalgas. O aumento de absorvância ao final do experimento com a diluição de 10% foi de  $0,82 \pm 0,1$  contra  $0,80 \pm 0,06$  do meio sintético. Os valores de absorvância das diluições de 5% e 30% ao final dos cultivos foram, respectivamente,  $0,71 \pm 0,02$  e  $0,20 \pm 0,08$ . A FIGURA 19 mostra as medições de absorvância dos cultivos diariamente.

A medida de absorvância é uma metodologia de rápida execução e fornece dados indicativos da microalga nos experimentos, como a identificação de sua fase de crescimento. Como essa metodologia pode ser influenciada pela quantidade de pigmentos por célula, os resultados podem ser confundidos com produtividade em biomassa. Desta forma, neste trabalho, foram considerados como produtividade os parâmetros densidade celular ( $\text{cél.mL}^{-1}$ ) por representar a quantidade de células presentes nos cultivos e o parâmetro de biomassa seca ( $\text{g.L}^{-1}$ ). A biomassa seca fornece informações precisas sobre a quantidade de matéria produzida nos experimentos. Já a densidade celular aferida por absorvância pode, muitas vezes, causar problemas na interpretação dos resultados quando algumas condições levam ao aumento do número de

células com tamanho pequeno ou, ainda, pequeno número de células com grande massa.

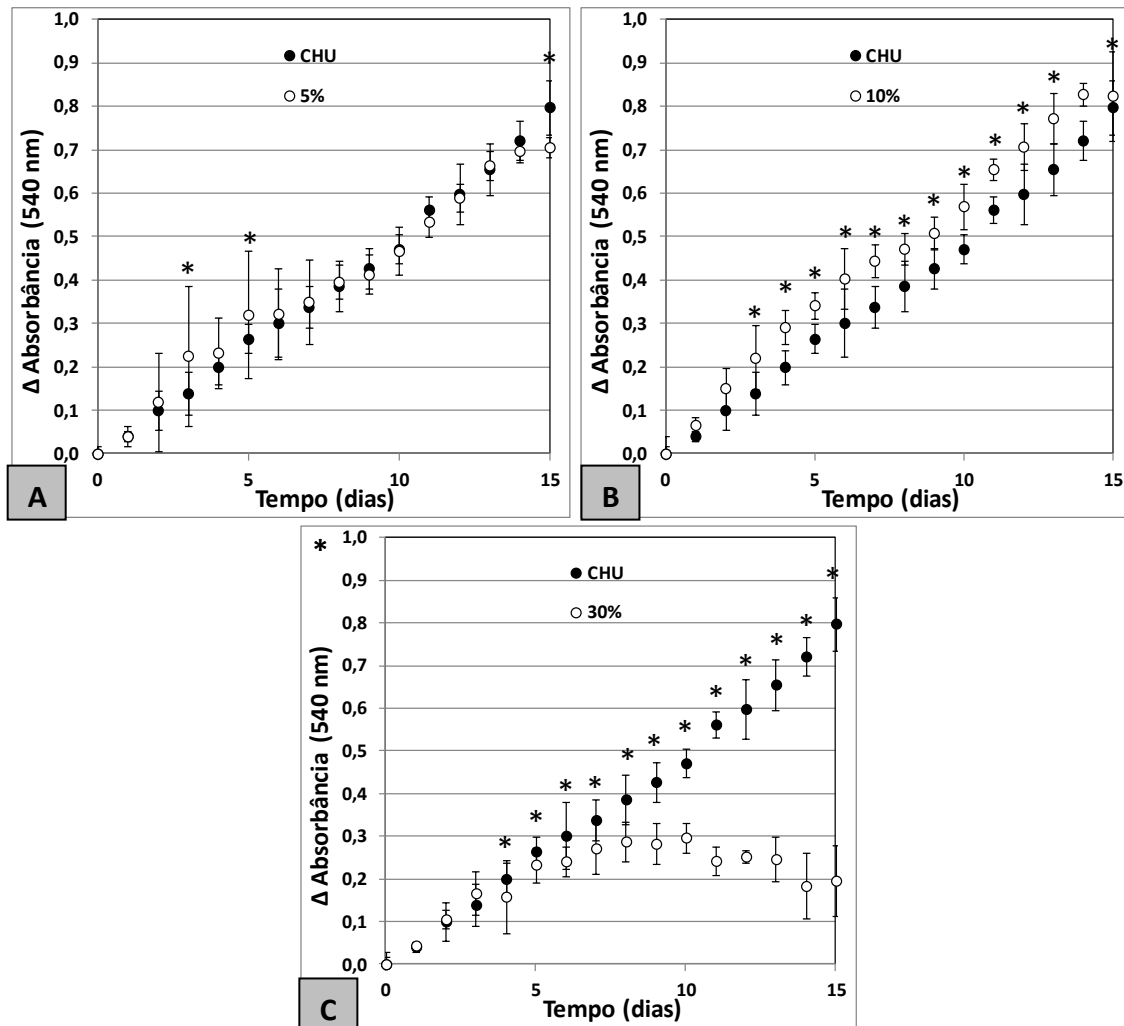


FIGURA 19 – RESULTADOS DAS ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados sem fotoperíodo (24 h de luz), 17 °C, aeração de 2 L.minuto<sup>-1</sup> em reator tipo erlenmeyer de 2 L (1,6 L de volume útil). \* apresenta diferença estatística com  $p < 0,05$

Nos resultados expressos na FIGURA 17 obteve-se número de células de  $835 \pm 70 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> e  $1149 \pm 70 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> para os cultivos com dejetos 5% e controle (CHU), respectivamente. Contudo, a biomassa seca realizada ao final dos 15 dias de cultivos demonstrou que os experimentos em questão resultaram numa quantidade de biomassa muito semelhante. Isso é um indicativo que as células cultivadas nessa concentração de dejetos resultaram

em organismos maiores e com mais matéria por unidade. A TABELA 11 correlaciona a quantidade de células obtidas nos cultivos com seus respectivos valores de biomassa seca e fornece uma estimativa da massa, em picogramas, de cada célula.

TABELA 11 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM ESCALA LABORATORIAL

EXPERIMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL	MEIO DE CULTIVO	BIOMASSA	CÉLULASx	pg.CÉLULAS <sup>-1</sup>
		SECA EM 15 DIAS (mg.mL <sup>-1</sup> )	10 <sup>4</sup> .mL <sup>-1</sup>	
	CHU	0,39	1149	34
	5% EFLUENTE SUÍNO	0,4	835	48
	10% EFLUENTE SUÍNO	0,61	1259	48
	30% EFLUENTE SUÍNO	0,09	434	21

FONTE: O autor (2013)

Os valores de pH ao longo dos dias de cultivo podem ser correlacionados indiretamente com a concentração e o consumo de CO<sub>2</sub> pelas microalgas. O cultivo que apresentou o valor mais alto de pH ao final da experimentação foi o de 10% (9,95 ± 0,22), indicando um maior consumo de dióxido de carbono pelas microalgas. A diluição de 5% apresentou o segundo maior valor de pH (9,49 ± 0,07). Já a diluição de 30% e o meio de cultivo sintético apresentaram valores menores e semelhantes, de 8,51 ± 0,21 e 8,13 ± 0,11, respectivamente. Os resultados de pH dos cultivos podem ser observados na FIGURA 20. Em todos os cultivos realizados com o dejetto biodigerido diluído o pH inicial foi alcalino devido, em grande parte, aos altos teores de amônia presentes, como pode ser observado no ANEXO 2.

Apesar dos cultivos com a diluição de 30% apresentarem maiores teores de nutrientes (fosfato e nitrogênio), fatores como a alta turbidez imposta pela presença de sólidos totais e pigmentos afetaram o crescimento das microalgas.

Além disso, à medida que as microalgas crescem aumenta ainda mais a coloração escura dos cultivos, dificultando a difusão da luz. Portanto, a incidência de luz nos cultivos é fator determinante para o crescimento e

consiste em fator limitante quando esta não é suficiente. Esse problema é encontrado em cultivos realizados em lagoas e sistemas abertos. Devido à baixa difusão da luz, as taxas de crescimento de tais cultivos normalmente são inferiores às taxas de crescimento de cultivos realizados em fotobiorreatores. Outra possibilidade para o menor crescimento nessa condição é devido à alta concentração de substâncias não determinadas, o que acarretaria alta osmolaridade do meio de cultivo.

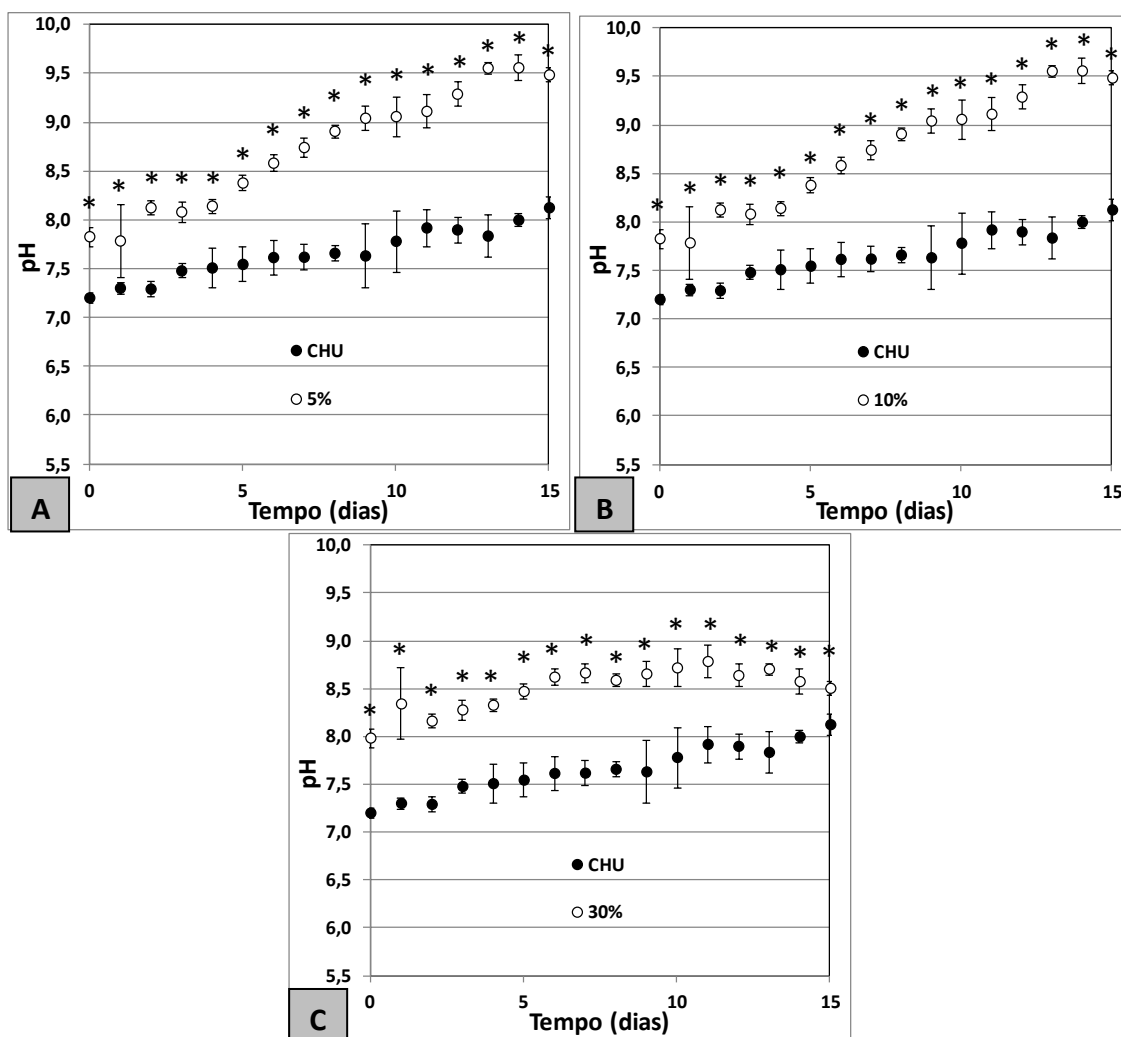


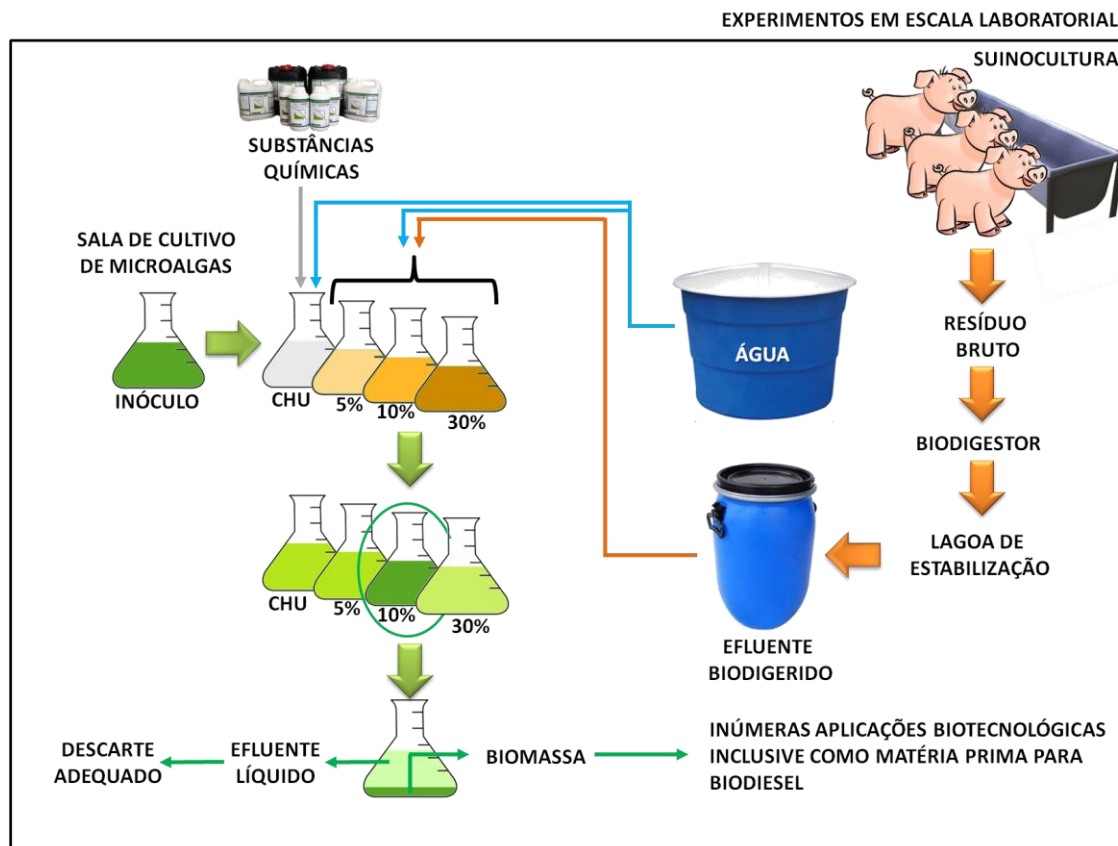
FIGURA 20 – RESULTADOS DAS ANÁLISES DE pH DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E CULTIVOS COM DEJETO SUÍNO EM DIFERENTES DILUIÇÕES. (A) 5%, (B) 10%, (C) 30%

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados sem fotoperíodo (24 h de luz), 17 °C, aeração de 2 L.minuto<sup>-1</sup> em reator tipo erlenmeyer de 2 L (1,6 L de volume útil). \* apresenta diferença estatística com  $p < 0,05$

A FIGURA 21 mostra um fluxograma das atividades, cultivos e resultados dos experimentos realizados em escala laboratorial.

FIGURA 21 – ATIVIDADES E EXPERIMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL



FONTE: O autor (2013)

Dessa forma, após a experimentação em escala laboratorial, observou-se um melhor desempenho de crescimento de microalgas na diluição de 10% em todos os parâmetros avaliados. De posse dessa informação, foi realizado um cultivo comparando essa melhor condição com o meio de cultivo CHU nos reatores tipo airlift.

## 5.2 CULTIVO EM REATOR AIRLIFT

O resultado apresentado neste trabalho é representativo de dois experimentos independentes realizados no reator airlift. Consiste em grande

importância mencionar que a configuração desse reator permite a melhor troca de gases, já que o reator apresenta uma coluna de água maior (2,7 m) em relação aos reatores tipo Erlenmeyer da escala laboratorial (0,14 m). A temperatura ambiental no período do cultivo variou de 20 °C a 29 °C.

Os resultados observados evidenciaram ainda mais o melhor desempenho do meio de cultivo alternativo diluído a 10%. Em todos os parâmetros aferidos (densidade celular, biomassa seca, absorvância e pH) o meio de cultivo com efluente superou o desempenho do meio sintético. Esses resultados podem ser observados na FIGURA 22.

A densidade celular atingida após o 15° dia de cultivo com efluente suíno (10%) foi de  $5199 \pm 458 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>. Isso representa um aumento de 70% em comparação ao resultado obtido para o mesmo período com o cultivo controle, que apresentou  $3041 \pm 167 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> no mesmo período. Kim *et al.* (2007) cultivaram a microalga *Scenedesmus* sp. por 60 dias em resíduo suíno digerido com adição de nutrientes. Nesse trabalho os autores obtiveram, no 15° dia de cultivo, concentração celular de aproximadamente  $500 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> e ao final do experimento a densidade celular alcançada foi de aproximadamente  $2000 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>. Analisando-se esses resultados em relação ao número de células, o crescimento celular do presente estudo mostra-se eficiente, não apenas pela concentração atingida, mas também pelo menor período de tempo necessário, quando comparados aos dados apresentados por Kim *et al.* (2007).

A TABELA 12 permite a identificação da correlação de densidade celular e biomassa seca no experimento realizado em reator airlift, assim como realizado com os experimentos em escala laboratorial. Pode-se notar que a massa das células do cultivo com meio CHU foi maior que a do meio com efluente suíno.

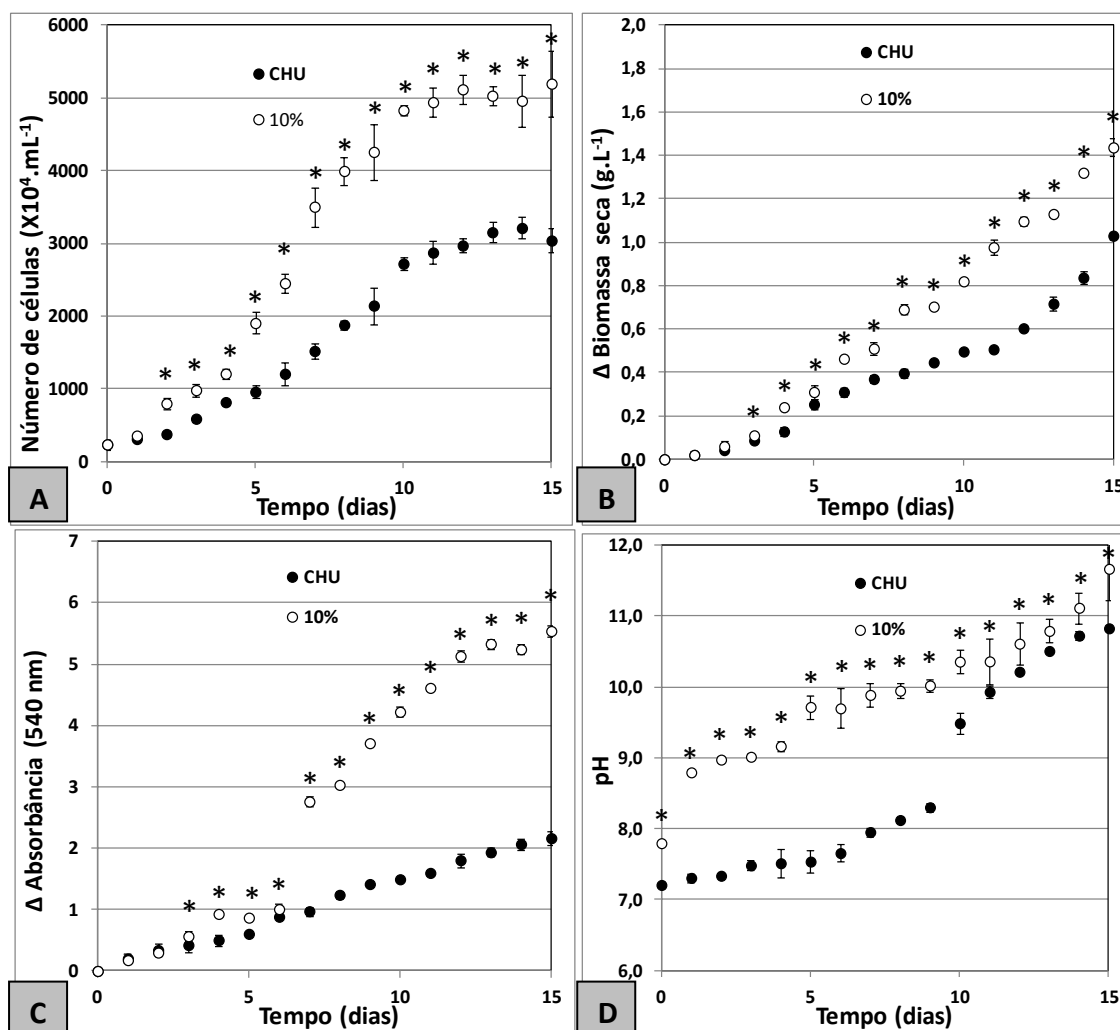


FIGURA 22 – RESULTADOS DOS CULTIVOS CONTROLE (MEIO CHU) E COM DEJETO SUÍNO DILUÍDO A 10% REALIZADOS EM REATOR AIRLIFT. (A) DENSIDADE CELULAR, (B) BIOMASSA SECA, (C) ABSORBÂNCIA EM 540 nm, (D) pH

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão.. Experimentos realizados em reator airlift (volume útil de 11 L) sujeito às variações ambientais de luminosidade e temperatura, aeração de 4 L.minuto<sup>-1</sup>. \* apresenta diferença estatística com  $p < 0,05$

TABELA 12 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT

EXPERIMENTOS EM REATORES AIRLIFT	MEIO DE CULTIVO	BIOMASSA SECA EM 15 DIAS (mg.mL <sup>-1</sup> )	CÉLULAS x10 <sup>4</sup> .mL <sup>-1</sup>	pg.CÉLULAS <sup>-1</sup>
	CHU	1	3041	33
	10% EFLUENTE SUÍNO	1,4	5199	27

FONTE: O autor (2013)

Após o 10º dia de cultivo pode se observar que, apesar das células atingirem a fase estacionária, o valor de biomassa seca continuou a aumentar, atingindo valor final de  $1,44 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$  no meio de cultivo com dejetos contra  $1,03 \pm 0,02 \text{ g.L}^{-1}$ . Isso se explica devido ao estresse pelo qual passam as células das microalgas, à medida que os nutrientes dos meios de cultivo são consumidos. Dessa forma, as microalgas direcionam seu metabolismo para o acúmulo de lipídeos e outros metabólitos (HO, CHEN e CHANG, 2012), uma vez que não possuem mais aminoácidos suficientes para a produção de mais aminoácidos e proteínas. Portanto, apesar de não haver crescimento celular nos últimos 5 dias de cultivo, houve ganho de biomassa nesse período. Vale ressaltar que o aumento de biomassa no meio de cultivo com efluente suíno foi 40% maior que o cultivo com meio CHU.

O ganho de biomassa de microalgas cultivadas em resíduos também foi relatado por Woertz *et al.* (2009). Os autores utilizaram efluente da indústria de laticínios diluído a 10% como meio de cultivo. Nessa condição obtiveram  $0,5 \text{ g.L}^{-1}$  de biomassa seca como melhor resultado no 6º dia de experimento. Em diluição de 25%, o ganho foi maior:  $0,9 \text{ g.L}^{-1}$  ao 13º dia de cultivo.

Abou-Shanab *et al.* (2013) também utilizaram resíduo suíno como meio de cultivo alternativo para o crescimento de diferentes microalgas, dentre elas a *Scenedesmus obliquus*. Após 20 dias de experimentação, a biomassa microalgal relatada dessa espécie alcançou aproximadamente  $0,53 \text{ g.L}^{-1}$ .

O ganho de absorvância do cultivo com efluente suíno diluído a 10% foi bastante superior ao do cultivo com meio CHU. O aumento obtido no cultivo com dejetos foi de  $5,5408 \pm 0,09$  enquanto no cultivo controle foi de  $2,1643 \pm 0,11$ .

### 5.2.1 Quantificação de lipídeos totais e síntese do biodiesel

Para os cultivos em reator airlift realizou-se a quantificação de lipídeos totais ao final do cultivo com meio de cultivo alternativo e meio de cultivo CHU (FIGURA 23). A análise, realizada em triplicata, indicou uma quantidade de

25,68%  $\pm$  3,02 de lipídeos totais em biomassa seca para o cultivo com dejetos suíno e 24,56%  $\pm$  2,78 para o cultivo com meio sintético. Desta forma, pode-se perceber que o teor de lipídeos na biomassa de microalgas foi o mesmo, independentemente do meio de cultivo utilizado. Contudo, o mesmo não pode ser afirmado em relação à produtividade em óleo dos dois cultivos. A TABELA 13 mostra um comparativo de produtividade de lipídeos totais em função do volume dos cultivos. Apesar dos teores de lipídeos serem semelhantes nas duas condições analisadas, o cultivo em dejetos suíno resultou em maior quantidade de biomassa seca. Isso fez com que a produtividade de lipídeos apresentada nesse cultivo seja 46% maior que a produtividade do cultivo em meio sintético.

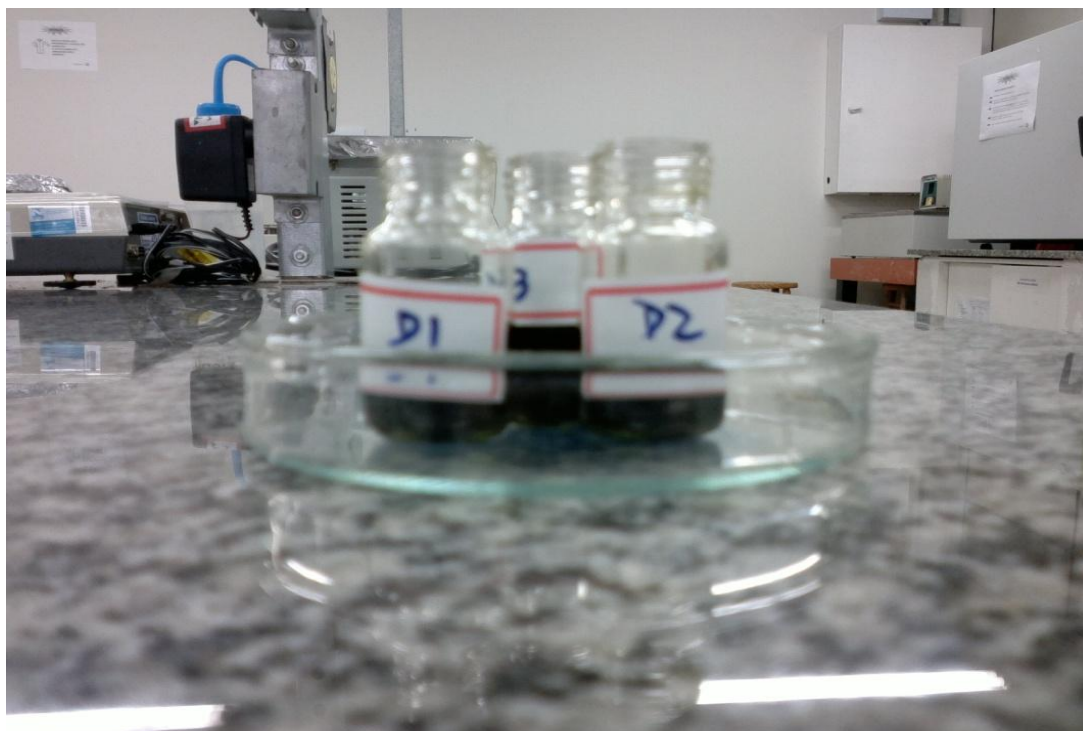


FIGURA 23 – ASPECTO DO ÓLEO DURANTE A EXTRAÇÃO DE MATERIAL APOLAR A PARTIR DOS CULTIVOS REALIZADOS COM DEJETO SUÍNO EM REATOR AIRLIFT (LIPÍDEOS + SOLVENTES)

FONTE: O autor (2013)

Como comparativo, tem-se que a produção de lipídeos totais produzidos a partir da microalga *Chlorella* foi de 8% a 29%, quando cultivada em efluente da indústria de laticínios em diferentes diluições (WOERTZ *et al.*, 2009). Xin, Hong-Ying e Jia (2010) obtiveram de 31% a 33% de teor lipídico em experimento realizado com a microalga *Scenedesmus* sp. em efluente

sanitário. Vale ressaltar que esse estudo foi realizado durante um período de 30 dias. Abou-Shanab *et al.* (2013), em trabalho também realizado com *Scenedesmus* sp. utilizando efluente suíno como meio de cultivo, alcançaram concentração lipídica de aproximadamente 31%.

TABELA 13 – RENDIMENTOS DE PRODUTIVIDADE DE LIPÍDEOS NOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT

EXPERIMENTOS EM REATORES AIRLIFT	MEIO DE CULTIVO	BIOMASSA SECA EM 15 DIAS (mg.mL <sup>-1</sup> )	LIPÍDEOS TOTAIS (%)	LIPÍDEOS TOTAIS (mg.mL <sup>-1</sup> de meio de cultivo)
	CHU	1	24,56	0,246
	10% EFLUENTE SUÍNO	1,4	25,68	0,360

FONTE: O autor (2013)

A TABELA 14 mostra, de acordo com a literatura, diferentes espécies de microalgas e seus respectivos teores de lipídeos.

TABELA 14 – TEOR LIPÍDICO EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS

ESPÉCIE DE MICROALGA	TEOR LIPÍDICO (%)
<i>Chlorella</i> sp.	10 – 48
<i>Dunaliella salina</i>	6 – 25
<i>Dunaliella</i> sp.	17,5 – 67
<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
<i>Spirulina platensis</i>	4 – 16,6
<i>Spirulina máxima</i>	4 – 9

FONTE: Adaptado de Mata, Martins e Caetano (2010)

Os resultados de teor lipídico para *Scenedesmus* sp. descritos nesse trabalho são semelhantes aos resultados reportados na literatura em relação a cultivos e meios sintéticos e formulados a partir de dejetos.

Utilizando metodologia aprimorada por Schroeder *et al.* (2011), a biomassa úmida de microalgas obtida pelo cultivo em reator airlift foi submetida à saponificação. Neste processo, os ácidos graxos são recuperados obtendo-se um material ideal para ser submetido à esterificação. A TABELA 15 apresenta a composição dos ácidos graxos obtidos por esse processo. Além disso, essa tabela também apresenta o perfil lipídico da mesma microalga cultivada em outra condição (meio de cultivo CHU em fotobiorreator tubular compacto), bem como de outras duas *Scenedesmus* descritas na literatura.

TABELA 15 – COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE MICROALGAS DO GÊNERO *Scenedesmus*

ÁCIDOS GRAXOS	<i>Scenedesmus</i> sp.			<i>Scenedesmus obliquus</i>
	1	2	3	4
	TEOR (%)			
C4:0	0	0	0	0
C6:0	0	0	0	0
C8:0	0	0,5	0	0
C10:0	0	1,7	0	0
C12:0	0	0,5	0	0
C14:0	0	0,9	0	6,7
C15:0	0	0	0	0
C16:0	24,5	18,5	18,4	20,3
C17:0	0	0	0	0
C18:0	4,6	2,6	3,4	1,5
C14:1	0	0,7	0	0
C15:1	0	0	0	0
C16:1	3,7	14,0	2,3	42,1
C16:2	0	0	3,3	1,8
C17:1	0	0	0	0
C18:1n9c	45,4	19,9	49,6*	5,1*
C18:1n9t	0,4	0		
C18:2n6t	0,9	6,4	11,3*	0,8*
C18:2n6c	13,1	4,6		
C18:3n3	6,8	20,1	8,3*	0
C18:3n6	0	0		0
C20:0	0	0,5	0	0
C20:1	0	0	0	0
C20:2	0,7	0	0	0
C20:3n3	0	0,5	0	0
C20:5	0	0,8	0	2,1
C21:0	0	2,1	0	0
C22:0	0	0,8	0	0
C22:1	0	0	0	0
C22:2	0	1,0	0	0
C22:6n3	0	1,8	0	2,4
C23:0	0	0,4	0	0
C24:0	0	0	0	7,0
C24:1	0	1,7	0	0

continua

TABELA 15 – COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE MICROALGAS DO GÊNERO *Scenedesmus*

continuação e conclusão

ÁCIDOS GRAXOS	<i>Scenedesmus</i> sp.			<i>Scenedesmus obliquus</i>
	1	2	3	4
	TEOR (%)			
Outros	0	0	3,38	10,2
Saturados (AGS)	29,1	28,5	21,8	35,5
Monoinsaturados (AGMI)	49,5	34,6	51,9	47,2
Poli-insaturados (AGPI)	21,4	37,0	22,8	7,2
Trans isômeros totais	1,3	6,4	-	-
(AGMI + AGPI) / AGS	2,4	2,5	3,4	1,5
(AGS + AGMI) / AGPI	3,7	1,7	3,2	11,5

FONTE: o autor (2013)

NOTA: 1) Meio de cultivo efluente suíno biodigerido (10%). Cultivo em fotobiorreator de 12 L do tipo airlift (FIGURA 09).

2) Meio de cultivo sintético (CHU). Cultivo em fotobiorreator de 10 m<sup>3</sup> do tipo compacto (FIGURA 04) - 2011 (dados não publicados).

3) Chen *et al.* (2012).

4) Song *et al.* (2013).

\* Isômeros não informados pelos autores

Portanto, de acordo com os parâmetros de qualidade do biodiesel, é interessante cultivar microalgas com elevado teor de ácidos graxos, preferencialmente saturados e monoinsaturados, além de baixa quantidade de poli-insaturados. A análise do perfil lipídico do óleo da microalga *Scenedesmus* sp. realizada nesse trabalho aponta teores de 29,1% de ácidos graxos saturados; 49,5% de monoinsaturados e 21,4% de poli-insaturados.

A TABELA 16 demonstra um comparativo entre os ácidos graxos encontrados na *Scenedesmus* sp. cultivada em efluente suíno biodigerido diluído a 10% e a soja, canola e palma. O biodiesel de palma constitui um biocombustível com grande estabilidade oxidativa devido a altos teores de ácidos graxos saturados e conteúdo reduzido de ácidos graxos monoinsaturados. Contudo, em relação ao ponto de entupimento a frio, pode solidificar-se a temperaturas de 15 °C. Biodiesel de soja e canola apresentam menor estabilidade oxidativa em comparação à palma, entretanto, apresentam melhores comportamentos em relação à viscosidade cinemática e ponto de entupimento a frio. Em função da composição de ácidos graxos determinada pela extração da biomassa úmida, pode-se prever um desempenho similar à soja e a canola para o biodiesel de microalgas em relação à viscosidade cinemática, ponto de entupimento a frio. Para a estabilidade oxidativa, já que

as microalgas apresentaram menores teores de poli-insaturados, espera-se desempenho intermediário entre soja/canola e a palma. Trabalhos futuros são necessários para produção em escala de biodiesel de microalgas de modo a fornecer dados para essa discussão.

TABELA 16 – COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS MICROALGAS E DA SOJA, CANOLA E PALMA

ÁCIDOS GRAXOS	<i>Scenedesmus</i> sp. 15 dias de cultivo (efluente suíno diluído a 10%)	SOJA		CANOLA	PALMA
		1	2	2	2
		TEOR (%)			
C4:0	0	0	0	0	0
C6:0	0	0	0	0	0
C8:0	0	0	0	0	0
C10:0	0	0	0	0	0
C12:0	0	0	0	0	0
C14:0	0	0	0	0	1,1
C15:0	0	0	0	0	0
C16:0	24,5	11,3	11,4	3,0	42,7
C17:0	0	0	0	0	0,1
C18:0	4,6	3,5	3,6	2,0	4,5
C14:1	0	0	0	0	0
C15:1	0	0	0	0	0
C16:1	3,7	0	0	0	0
C16:2	0	0	0	0	0
C17:1	0	0	0	0	0,1
C18:1n9c	45,4	22,4	25,2	57,0*	39,4
C18:1n9t	0,4	0	0		0
C18:2n6t	0,9	0	0	22,0*	0
C18:2n6c	13,1	54,6	53,6	16,0*	10,6
C18:3n3	6,8	8,1	6,2		0,2
C18:3n6	0	0	0		0
C20:0	0	0	0	0	0,39
C20:1	0	0	0	0	0,2
C20:2	0,7	0	0	0	0
C20:3n3	0	0	0	0	0
C20:5	0	0	0	0	0
C21:0	0	0	0	0	0
C22:0	0	0	0	0	0,6
C22:1	0	0	0	0	0
C22:2	0	0	0	0	0
C22:6n3	0	0	0	0	0
C23:0	0	0	0	0	0
C24:0	0	0	0	0	0,1
C24:1	0	0	0	0	0,1

continua

TABELA 16 – COMPARAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DAS MICROALGAS E DA SOJA, CANOLA E PALMA.

continuação e conclusão

ÁCIDOS GRAXOS	<i>Scenedesmus</i> sp. 15 dias de cultivo (efluente suíno diluído a 10%)	SOJA		CANOLA	PALMA
		1	2	2	2
TEOR (%)					
Saturados (AGS)	29,1	14,8	15	5	49,5
Monoinsaturados (AGMI)	49,5	22,5	25,2	57,0	39,7
Poli-insaturados (AGPI)	21,4	62,7	59,8	38,0	10,8

FONTE: O autor (2013)

NOTA: 1) Ferrari *et al.* (2005)

2) Ramos *et al.* (2009)

\* Isômeros não informados pelos autores

A mistura de ácidos graxos obtidas por saponificação da biomassa úmida, após a análise da composição, foi submetida à esterificação enzimática na presença de metanol para conversão em ésteres metílicos. A cinética dessa reação para as sínteses realizadas com duas preparações enzimáticas distintas pode ser observada na FIGURA 24.

De acordo com os resultados obtidos pôde se observar que ambas as cepas fúngicas utilizadas foram capazes de realizar a esterificação do óleo das microalgas. O fungo *Aspergillus fumigatus* atingiu uma conversão de 98,73% em 12 horas enquanto a espécie *Penicillium sumatrense* obteve conversão de 67,34% no mesmo período de tempo. Pode-se perceber que a preparação enzimática proveniente do cultivo com *Aspergillus fumigatus* apresenta grande potencial de uso como catalisador para produção de biodiesel, já que em 6 horas apresenta conversões próximas de 90% e, assim sendo, futuros estudos devem ser realizados para investigar essa possibilidade. Dessa forma, a partir desses resultados, demonstra-se que os lipídeos obtidos da biomassa úmida de microalgas cultivadas em meio formulado a partir de efluente suíno biodigerido são passíveis de conversão a ésteres metílicos.

Destaca-se nessa tecnologia a utilização de enzimas não comerciais, a não necessidade de aquecimento no processo de esterificação, o baixo gasto

energético do processo e a rápida conversão dos ácidos graxos a ésteres (mais de 90% em 6 horas).

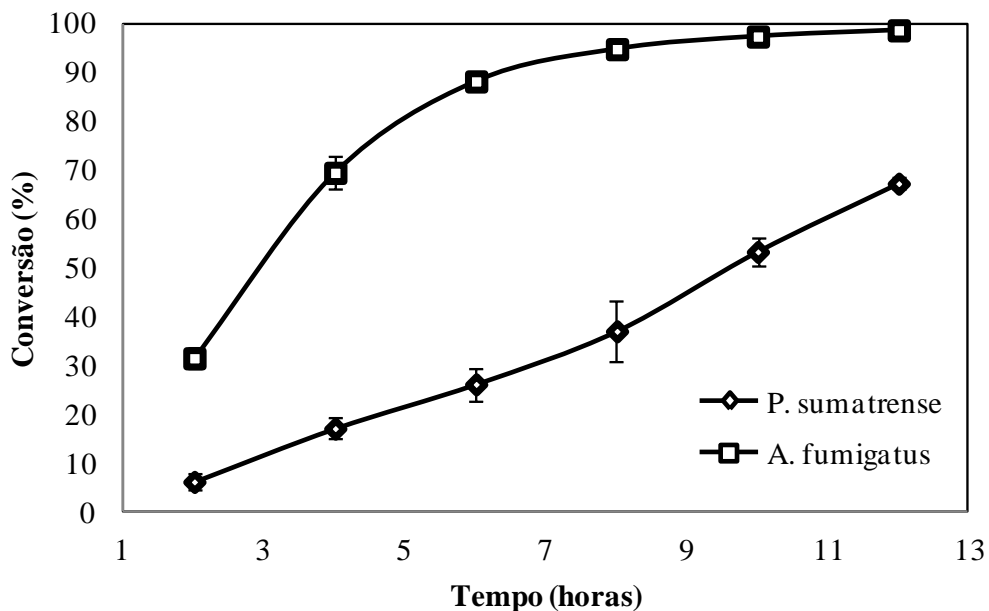


FIGURA 24 – CONVERSÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS A BIODIESEL POR ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA  
FONTE: O autor (2013)

### 5.2.2 Biorremediação do efluente suíno

O uso de efluente suíno biodigerido na formulação de meio de cultivo permitiu a produção mais eficiente de biomassa de microalgas com maior produtividade de óleo (46%) em comparação ao meio de cultivo sintético. Após a separação da biomassa de microalgas no 15º dia, a composição do meio de cultivo residual em relação aos teores de nitrogênio e fósforo foi avaliada para verificação da biorremediação proporcionada pelo processo como um todo. A TABELA 17 mostra as quantidades originais e após o cultivo das microalgas, depois da separação da biomassa, já obedecendo à diluição de 10%.

TABELA 17 – REMOÇÃO DE NUTRIENTES DO RESÍDUO SUÍNO APÓS A SEPARAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS

NUTRIENTES	QUANTIDADE INICIAL	QUANTIDADE APÓS O CULTIVO	REMOÇÃO DE NUTRIENTES (%)
Fosfato	7,43 mg P.L <sup>-1</sup>	0,05 mg P.L <sup>-1</sup>	99,3
Nitrogênio total	260,65 mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup>	7,53 mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup>	97,1
Nitrogênio orgânico	41,86 mg.L <sup>-1</sup>	7,53 mg.L <sup>-1</sup>	82,0
Nitrogênio amoniacal	218,79 mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup>	<1,00 mg NH <sub>3</sub> – N.L <sup>-1</sup>	99,6

FONTE: O autor (2013)

Para todos os parâmetros analisados foram observados reduções significativas dos teores dos nutrientes (82 - 99,6%). As eficiências de remoção dos nutrientes avaliados são condizentes com trabalho realizado por Wang *et al.* (2010). Os autores realizaram experimentos com a microalga *Chlorella* sp. em meios de cultivo alternativos confeccionados com efluente suíno biodigerido em diferentes diluições. Uma das diluições utilizadas foi 10% (mesma diluição com os melhores resultados nesse trabalho). As remoções de nitrogênio total, nitrogênio amoniacal e fosfato relatadas foram da ordem de 82,5%; 100% e 70,1%, respectivamente. Outro estudo, realizado por Woertz *et al.* (2009), com resíduo proveniente da indústria de laticínios diluídos a 10% e 25% com mix de microalgas (dentre elas a *Scenedesmus* sp.) apresentou uma remoção de 96% nitrogênio amoniacal e mais de 99% de fosfato. A aeração dos cultivos foi realizada com uma mistura de ar atmosférico e CO<sub>2</sub> puro.

A maior taxa de redução dos nutrientes avaliados foi a de nitrogênio amoniacal, alcançando quase 100% de remoção. Esse comportamento também foi observado por diversos autores, independentemente do resíduo e espécie utilizados. A TABELA 18 faz um comparativo da remoção de nitrogênio amoniacal de diferentes estudos.

TABELA 18 – REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIAICAL DE DIFERENTES TRABALHOS

AUTOR	% DE REMOÇÃO	ESPÉCIE DE MICROALGA	MEIO DE CULTIVO
Martinez <i>et al.</i> (2000)	80 – 99	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Resíduo municipal autoclavado

Continua

TABELA 18 – REMOÇÃO DE NITROGÊNIO AMONICAL DE DIFERENTES TRABALHOS  
continuação e conclusão

AUTOR	% DE REMOÇÃO	ESPÉCIE DE MICROALGA	MEIO DE CULTIVO
Lincoln, Wilkie e French (1996)	99	<i>Arthrouspira plantensis</i>	Efluente da indústria de laticínio biodigerido
Green, Lundquist e Oswald (1995)	99	Mix	Resíduo municipal sem pré-tratamento
Woertz <i>et al.</i> (2009)	99	Mix	Resíduo municipal sem pré-tratamento
Woertz <i>et al.</i> (2009)	96	Mix	Efluente da indústria de laticínio biodigerido
Wang <i>et al.</i> (2010)	100	<i>Chlorella</i> sp.	Efluente da indústria de laticínio biodigerido
Presente estudo	99,6	<i>Scenedesmus</i> sp.	Efluente suíno biodigerido

FONTE: O autor (2013)

NOTA: Mix corresponde ao cultivo utilizando simultaneamente várias espécies de microalgas

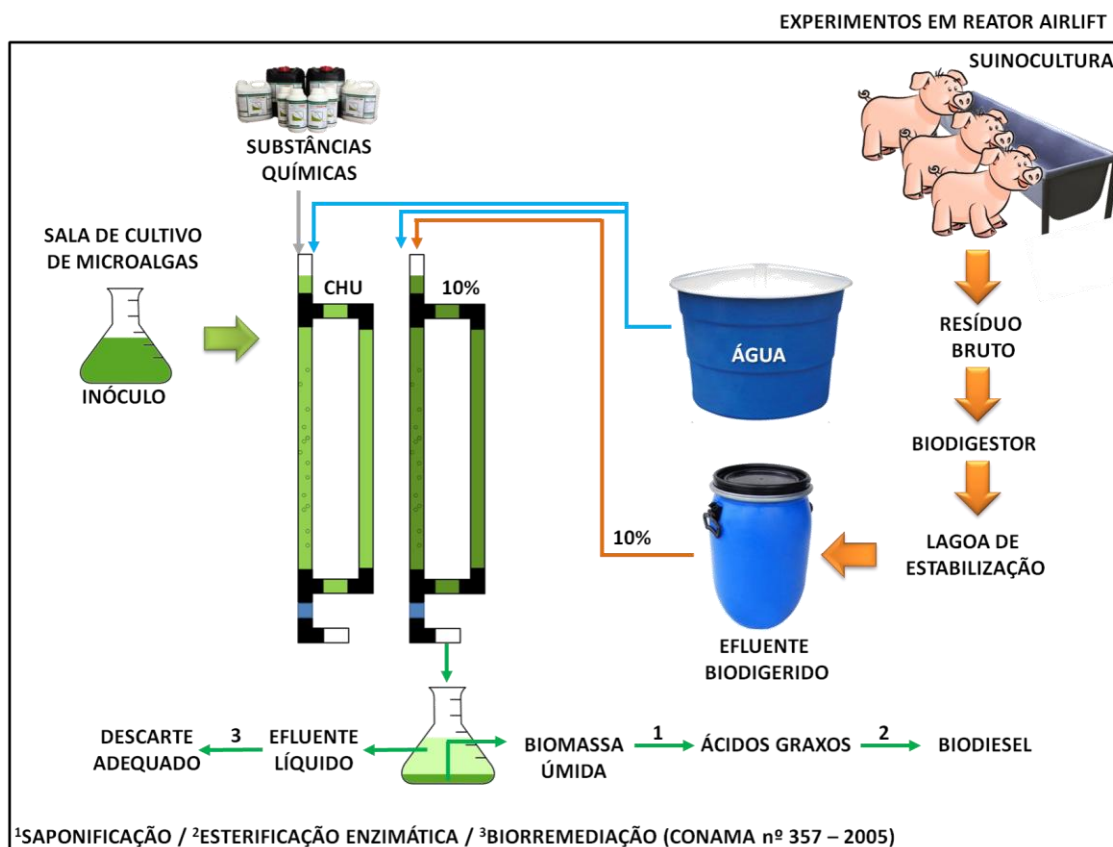
Com base nos dados de remoção de nutrientes apresentados no presente trabalho, considera-se o cultivo de microalgas uma forma eficiente de biorremediação. De acordo com a resolução CONAMA n° 357/2005 a quantidade final de nutrientes atingida permite a descarga do efluente do cultivo após a separação das microalgas no que diz respeito às quantidades de nitrogênio amoniacal e fosfato total, desconsiderando os demais parâmetros exigidos por essa resolução. Os limites exigidos para lançamento em corpos hídricos de água doce classe 3 são de 0,05 mg P.L<sup>-1</sup> para fosfato total e 1,0 a 13,3 mg N.L<sup>-1</sup> para nitrogênio amoniacal. A água doce classe 3 pode ser destinada ao consumo humano desde que tratada pelos métodos convencionais ou avançados, irrigação de algumas espécies vegetais, pesca amadora, recreação de contato secundário e dessedentação de animais. Os limites de nitrogênio total e orgânico não constam na resolução CONAMA n° 357/2005.

Vale ressaltar que a tecnologia da remoção de nutrientes de águas residuais por microalgas é também eficiente para diminuição de DBO e DQO. Em experimento semelhante realizado no NPDEAS com resíduo proveniente de bovinocultura diluído a 30% em água destilada obteve-se redução de 22,4%

da DBO daquele resíduo ( $78,2 \text{ mg.L}^{-1}$  a  $60,7 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e 53,6% da DQO ( $489,5 \text{ mg.L}^{-1}$  a  $227,1 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

A FIGURA 25 mostra um fluxograma das atividades, cultivos e resultados dos experimentos realizados em reator airlift.

FIGURA 25 – ATIVIDADES E EXPERIMENTOS EM REATOR AIRLIFT



FONTE: O autor (2013)

## 6 CONCLUSÕES

A utilização de matérias-primas tradicionais para produção do biodiesel pode impactar negativamente no mercado de alimentos. Nesse contexto, o cultivo de microalgas se apresenta como uma das vertentes promissoras. O cultivo desses micro-organismos apresenta vantagens significativas para a produção do biodiesel. Porém, baixar o custo dos meios de cultivo, assim como de todos os processos envolvidos em sua produção é algo de fundamental relevância.

Neste trabalho, ficou demonstrado a produção de biomassa de microalgas através da substituição dos componentes químicos de meio de cultivo sintético por efluentes da suinocultura biodigeridos. Os melhores resultados em relação a densidade celular, biomassa seca e análise de absorvância foram atingidos pela formulação de meio de cultivo alternativo por diluição do resíduo suíno a 10% em água destilada. A densidade celular atingida ao 15º dia de cultivo foi de  $5199 \pm 458 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ , 70% a mais que o meio de cultivo sintético. Além disso, o ganho de biomassa com efluente suíno foi de  $1,4 \text{ g.L}^{-1}$ , 40% superior a condição padrão. Já a produção de lipídeos correspondeu à  $360 \text{ mg.L}^{-1}$ , 46% maior quando comparados ao meio de cultivo controle. O melhor resultado da síntese de ésteres, realizada por esterificação enzimática com lipases fúngicas, apresentou taxa de conversão de ácidos graxos a ésteres de 98,73% em 12 horas.

Com a realização dos cultivos e o crescimento das microalgas, comprovou-se a eficiência que esses micro-organismos possuem para biorremediação do efluente suíno. Houve uma diminuição média de 94,5% de nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico e nitrogênio total. A água residual após a separação das microalgas do meio de cultivo apresentou níveis adequados dos nutrientes considerados para descarte, de acordo com a resolução CONAMA n. 357/2005.

## 6.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Apresentam-se as seguintes sugestões para a continuação deste trabalho:

1. Estudos de formulações de meio de cultivo com resíduo suíno biodigerido diluído a taxas intermediárias entre 10% e 30% para incremento da produção de biomassa.
2. Escalonamento à produção em massa, cultivando microalgas em efluente suíno biodigerido nos fotobiorreatores de 10 m<sup>3</sup> do NPDEAS e produzindo biodiesel em escala industrial.
3. Análise e exploração de outros compostos de interesse, como pigmentos e proteínas das microalgas produzidas em resíduo suíno.
4. Análise do potencial biorremediador das microalgas com relação a outros compostos químicos, como metais pesados e poluentes de interesse.
5. Investigação da tolerância das microalgas frente a resíduos diversos oriundos de atividade agroindustrial.
6. Avaliar a diminuição da DBO e DQO do resíduo suíno após o cultivo de microalgas.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-RAOUF, N.; A.A. AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, p. 257-275, 2012.

ABIOVE (Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais). Estatísticas. Disponível em: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatisticaearea=NC0yLTE=2013>>. Acesso em: 21/06/2013.

ABOU-SHANAB, R.A.I.; MIN-KYU, J.; HYUN-CHUL, K.; KI-JUNG, P.; BYONG-HUN, J. Microalgal species growing on piggery wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production. **Journal of Environmental Management**, v. 115, p. 257–264, 2013.

ADAMSSON, M. Potential use of human urine by greenhouse culturing of microalgae (*Scenedesmus acuminatus*), zooplankton (*Daphnia magna*) and tomatoes (*Lycopersicon*). **Ecological Engineering**, v.16, n. 2, p. 243– 254, 2000.

AHMAD, A.L.; YASIN, N.H.M.; DEREK, C.J.C.; LIM, J.K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 584-593, 2011.

ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis). Boletim mensal do biodiesel. 2013. Disponível em: <[http://www.aprobio.com.br/boletim\\_biodiesel\\_ANP\\_Maio2013.pdf](http://www.aprobio.com.br/boletim_biodiesel_ANP_Maio2013.pdf)>. Acesso em: 02/06/13.

APSIMON, H.M.; KRUSE, M.; BELL, J.N.B. Ammonia emissions and their role in acid deposition. **Atmospheric Environment**, v. 21, p. 1939–1946, 1987.

ARIAS-PEÑARANDA, M. T.; CRISTIANI-URBINA, E.; MONTES-HORCASITAS, C.; ESPARZA-GARCÍA, F.; TORZILLO, G.; ROSA OLIVIA CAÑIZARES-VILLANUEVA, R. O. *Scenedesmus incrassatulus* CLHE-Si01: A potential source of renewable lipid for high quality biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 158–164, 2013.

ARRUDA, M. H.; AMARAL, L. P.; PIRES, O. P. J.; BARUFI, C. R. V. Dimensionamento de Biodigestor para Geração de Energia Alternativa. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, ano I, n. 2, 2002.

ASLAN, S.; KAPDAN, I.K.. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**, v. 28, p.64–70, 2006.

AZEREDO, V. B. S. **Produção de Biodiesel a partir do cultivo de microalgas**: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil. 188 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BASSO, C. J. **Perdas de nitrogênio e fósforo com aplicação no solo de dejetos líquidos de suínos**. 144 h. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria –RS, 2003.

BARLOW, E.W.R.; BOERSMA, L.; PHINNEY, H.K.; MINER, J.R. Algal growth in diluted pig waste. **Agriculture and Environment**, v. 2, p. 339–355, 1975.

BARON, A. M.; LUBAMBO, A. F.; LIMA, V. M. G.; CAMARGO, P. C.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. Atomic force microscopy: a useful tool for evaluating aggregation of lipases. **Microscopy and Microanalysis**, v. 11, n. 3, p. 74–77, 2005.

BEN-AMOTZ, A. Dunaliella-carotene: from science to commerce. In: SECKBACH, J. **Enigmatic Microorganisms and Life in Extreme Environments**. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1999. p. 401–410.

BENEMANN, J. R. CO<sub>2</sub> Mitigation with microalgae systems. **Energy Conversion and Management**, v.38, p. S475-S479, 1997.

BISHOP, N. I. The  $\beta$ ,e-carotenoid, lutein, is specifically required for the formation of the oligomeric forms of the light harvesting complex in the green alga, *scenedesmus obliquus*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 36, p. 279–283, 1996.

BLIGH, E.; DYER, W. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, v. 37, p. 911–917, 1959.

BRASIL. Decreto-lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.

BRASIL. Resolução ANP n. 7, de 19 de março de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 mar. 2008.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 053, p. 58-63, 18 mar. 2005.

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

BRITO, A., PEIXOTO, J., OLIVEIRA, J., OLIVEIRA, J., COSTA, C., NOGUEIRA, R., RODRIGUES, A., Brewery and winery wastewater treatment: some focal points of design and operation. In: OREOPOULOU, V.; RUSS, W. **Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry**, New York: Springer, 2007. p. 109–131.

BROWN, M.R.; JEFFREY, S.W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**. v. 151 p.315-331, 1997.

BURTON, C.H.; TURNER, C. **Manure Management: Treatment Strategies for Sustainable Agriculture**. 2 ed. Silsoe Research Institute, Bedford, United Kingdom, 2003.

CAMPOS, V. B.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S. O. Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p. 339-347, 2010.

CARPENTER, S.R.; CARACO, N.F.; CORRELL, D.L.; HOWARTH, R.W.; SHARPLEY, A.N.; SMITH, V.H. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. **Ecological Applications**, v. 8, p. 559–568, 1998.

CARVALHO JÚNIOR, R. M.; VARGAS, J. V. C.; RAMOS, L. P.; MARINO, C. E. B.; TORRES, J. C. L. Microalgae biodiesel via in situ methanolysis. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, p. 1418-1427, 2011.

CHEN, L.; LIU, T.; ZHANG, W.; CHEN, X.; WANG, J. Biodiesel production from algae oil high in free fatty acids by two-step catalytic conversion. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 208-214, 2012.

CHEN, P.; MIN, M.; CHEN, Y.; WANG, L.; LI, Y.; CHEN, Q.; WANG, C.; WAN, Y.; WANG, X.; CHENG, Y.; DENG, S.; HENNESSY, K.; LIN, X.; LIU, Y.; WANG, Y.; MARTINEZ, B.; RUAN, R. Review of the biological and engineering aspects of algae to fuels approach. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 2, n. 4, p. 1-30, 2009.

CHEONG, S.H.; KIM, M.Y.; SOK, D.E.; HWANG, S.Y.; KIM, J.H.; KIM, H.R.; LEE, J.H.; KIM, Y.B.; KIM, M.R. Spirulina prevents atherosclerosis by reducing hypercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. **Journal of Nutritional Science Vitaminology**, v. 56, p 34–40, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, p. 249-306, 2007.

CHOI, J.-A.; HWANG, J.-H.; DEMPSEY, B. A.; ABOU-SHANAB, A. I. R.; MIN, B.; SONG, H.; LEE, D. S.; KIM, J. R.; CHO, Y.; HONG, S.; JEON, B.-H. Enhancement of fermentative bioenergy (ethanol/hydrogen) production using ultrasonication of *Scenedesmus obliquus* YSW15 cultivated in swine wastewater effluent. **Energy Environmental Science**, v. 4, p. 3513–3520, 2011.

CHU, S. P. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. **Journal of Ecology**, v. 30, n. 2, p. 284–325, 1942.

D'AQUINO, C.A.; MUNARO, M.; BALMANT, W.; VARGAS, J.V.C.; AMICO, S.C.; RIBEIRO, R.L.L. A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors. **Polymer Testing**, v. 31, p. 638-644, 2012.

DASGUPTA, C.N.; GILBERT, J.J.; LINDBLAD, P.; HEIDORN, T. BORGVANG, S.A.; SKJANESC, K.; DAS, D. Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 10218-10238, 2010.

de la NOÛE, 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.

de la TORRE, A.I.; JIMENEZ, J.A.; CARBALLO, M.; FERNANDEZ, C.; ROSET, J.; MUÑOZ, M.J. Ecotoxicological evaluation of pig slurry. **Chemosphere**, v. 41, n. 10, p. 1629–1635, 2000.

del CAMPO, J. A.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; GUERRERO, M. G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, p. 1163–1174, 2007.

DEMIRBAS, M.F. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, v. 88, p. 3473-3480, 2011 .

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 6, p. 1959 -1967, 2006.

EMBRAPA. Manejo de dejetos e outros materiais poluentes – Suínos e Aves - sistemas de Produção, Versão Eletrônica Jan/2003. Disponível em: <systemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Suinos/SPSuinos/manejodejetos.html.>. Acesso em: 10/02/2013.

EPE (Empresa de Pesquisa Energética). Balanço Energético Nacional 2009 – Ano base 2009: Resultado final. Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br>>, Acesso em: 30/05/2011.

FENG, Y.; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 101-105, 2011.

FERNANDES, M. L. M.; SAAD, E. B.; MEIRA, J. A.; RAMOS, L. P.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. Esterification and transesterification reactions catalysed by addition of fermented solids to organic reaction media. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 44, n. 1, p. 8–13, 2007.

FERRARI, R.A.; OLIVEIRA, V.S.; SCABIO, A. Biodiesel from soybean: characterization and consumption in an energy generator. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 19–23, 2005.

FLOTATS, X.; BONMATÍ, A.; FERNÁNDEZ, B.; MAGRÍ, A. Manure treatment technologies: on-farm versus centralized strategies. NE Spain as case study. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5519–5526, 2009

GARCÍA, M. C.; GARCÍA, B.; GARCÍA-RUIZ, C.; GÓMEZ, A.; CIFUENTES, A.; MARINA, M. L. Rapid characterisation of (glyphosate tolerant) transgenic and non-transgenic soybeans using chromatographic protein profiles. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1212–1217, 2009.

GODOS, I.; VARGAS, V. A.; BLANCO, S.; GONZÁLEZ, M. C. G.; SOTO, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5150–5158, 2010.

GORDON, J.M.; POLLE, J.E.W. Ultrahigh bioproductivity from algae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 76, p. 969-975, 2007.

GREEN, F. B.; LUNDQUIST, T. J.; OSWALD, W. J. Energetics of advanced integrated wastewater pond systems. **Water Science and Technology**, v. 31, n. 12, 1995.

HO, S-H.; CHEN, C-Y.; CHANG, J-S. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO<sub>2</sub> mitigation and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8725–8730, 2010.

HO, S-H.; CHEN, C-Y.; CHANG, J-S. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO<sub>2</sub> fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 244-252, 2012.

HODAIFA, G.; MARTÍNEZ, M.E.; ÓRPEZ, R.; SÁNCHEZ, S. Influence of hydrodynamic stress in the growth of *Scenedesmus obliquus* using a culture medium based on olive-mill wastewater. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 49, n. 11, p. 1161–1168, 2010.

HODAIFA, G.; MARTÍNEZ, M.E.; SÁNCHEZ, S. Influence of temperature on growth of *Scenedesmus obliquus* in diluted olive mill wastewater as culture medium. **Engineering in Life Sciences**, v. 10, n. 3, p. 257–264, 2010.

HOFFMANN, J.P. Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae. **Journal Phycology**, v. 34, p. 757–763, 1998.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, p. 38 – 46, 2010.

HUBER, G.W.; IBORRA, S.; CORMA, A. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering. **Chemical Reviews**, v. 106, p. 4044-4098, 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Pecuária Municipal 2010. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/TABELAs\\_pdf/ta b15.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/TABELAs_pdf/ta b15.pdf)>. Acesso em: 17/01/2013.

JOVENTINO, I.P.; ALVES, H.G.; NEVES, L.C.; PINHEIRO-JOVENTINO, F.; LEAL, L.K.; NEVES, S.A.; FERREIRA, F.V.; BRITO, G.A.; VIANA, G.B. The microalga *Spirulina platensis* presents anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypolipidemic properties in diabetic rats. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 9, 2012. DOI: 10.1515/1553-3840.1534.

KEBEDE-WESTHEAD, E.; PIZARRO, C.; MULBRY, W. W. Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: Production, nutrient recovery, and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates. **Journal of Applied Phycology**, v.18, p.41-46, 2006.

KIM, M. K.; PARK, J. W.; PARK, C. S.; KIM, S. J.; JEUNE, K. H.; CHANG, M. U.; ACREMAN, J. Enhanced production of *Scenedesmus spp.* (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 2220-2228, 2007.

KIM, M. K.; SMITH, R. E. H. Effect of ionic copper toxicity on the growth of green alga, *Selenastrum capricornutum*. **Journal of Microbiology e Biotechnology**, v. 11, p. 211–216, 2001.

KIM, M. K.; GIRAUD, G. Characters of neutral lipids of *Detonula sp.* in culture. **Algae**, v. 4, p 55–61, 1989

KIM, M.Y.; CHEONG, S.H.; LEE, J.H.; KIM, M.J.; SOK, D.E.; KIM, M.R. Spirulina improves antioxidant status by reducing oxidative stress in rabbits fed a high-cholesterol diet. **Journal of Medicinal Food**, v. 13, p. 420–426, 2010.

KITTO, M. R. Is earthen unmixed pond culture technology for *Dunaliella*, the only way to beat high natural  $\beta$ -carotene prices? 2012. Disponível em: <<http://en.engormix.com/MA-aquaculture/articles/earthen-unmixed-pond-culture-t2283/p0.htm>>. Acesso em: 16/02/2013.

KRAPAC, I.G.; DEY, W.S.; ROY, W.R.; SMYTH, C.A.; STORMENT, E.; SARGENT, S.L.; STEELE, J.D. Impacts of swine manure pits on groundwater quality. **Environmental Pollution**, v. 120, pp. 475–492, 2002.

LEDUC, S.; NATARAJAN, K.; DOTZAUER, E.; McCALLUM, I.; OBERSTEINER, M. Optimizing biodiesel production in India. **Applied Energy**, v. 86, p. S125-S131, 2009.

LEE, Y. K. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. **Journal Applied Phycology**, v. 13, p. 307-315, 2001.

LINCOLN, E. P.; WILKIE, A. C.; FRENCH, B. T. Cyanobacterial process for renovating dairy wastewater. **Biomass Bioenergy**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1996.

LORENZ, R.; CYSEWSKI, G. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends Biotechnology**, v. 18, p. 160–167, 2000.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. ISBN 8576561131.

LOWRY, R.R.; TINSLEY, J.I. Rapid colorimetric determination of free fatty acids. **Journal American Oil Chemical Society**, v. 53, p. 470-472, 1976.

LUNDQUIST, T. J.; WOERTZ, I.C.; QUINN, M. W. T.; BENEMANN, J. R. **A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production**. Berkeley: Energy Biosciences Institute, Universidade da Califórnia, 2010. 178 p. Relatório técnico.

LUQUE, R.; LOVETT, J.C.; DATTA, B.; CLANCY, J.; CAMPELO, J.M.; ROMERO, A.A. Biodiesel as feasible petrol fuel replacement: a multidisciplinary overview. **Energy Environmental Science**, v. 3, p. 1706–1721, 2010.

MA, F.; HANNA, M.A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, p. 1-15, 1999.

MAIRET, F.; BERNARD, O.; MASCI, P.; LACOUR, T.; SCIANDRA, A. Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis aff. galbana* under nitrogen limitation. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 142-149, 2011.

MARTINEZ, M.E.; SANCHEZ, S.; JIMENEZ, J.M.; YOUSFI, F.E.; MUNOZ, L. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalgae *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, p. 263–272, 2000.

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

MATA, T.M., MARTINS, A.A., SIKDAR, S., COSTA, C.A.V. Sustainability considerations of biodiesel based on supply chain analysis. **Clean Technologies e Environmental Policy**, v. 13, n. 5, p. 655–671, 2011.

MATHEWS, J.A. Carbon-negative biofuels. **Energy Policy**, n.36, p.940-945, 2008.

McLACHLAN, J. Growth media – marine. In: STEIN, J.R. **Handbook of Phycological Methods – Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge University Press, Cambridge, 1973. p. 25–51.

MENG, X.; YANG, J.; XU, X.; ZHANG, L.; NIE, Q.; XIAN, M. Biodiesel production from oleaginous microorganisms. **Renewable Energy**, v. 34, p. 1 – 5, 2009.

MIAO, X.; WU, Q. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. **Journal of Biotechnology**, v. 110, p.85-93, 2004.

MILAZZO, M. F.; SPINA, F.; PRIMERANO, P.; BART, J. C. J. Soy biodiesel pathways: Global prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 26, p. 579–624, 2013.

MIRANDA, J. R.; PASSARINHO, P. C.; GOUVEIA, L. Pre-treatment optimization of *Scenedesmus obliquus* microalga for bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 342–348, 2012.

MORAIS, K. C. C.; RIBEIRO, R. L. L.; SANTOS, K. R.; TAHER, D.M.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. Phaeodactylum tricornutum micralgae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions. **Engenharia Térmica**, v. 8, p. 84-89, 2009.

MURATA, N.; TAKAHASHI, S.; NISHIYAMA, Y.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1767, p. 414–421, 2007.

NICHOLS, H.W. Growth media – freshwater. In: STEIN, J.R. **Handbook of Phycological Methods – Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge University Press, Cambridge, 1973. p. 7–24.

OLGUÍN, E.J. Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 81–91, 2003.

OLIVEIRA, A. C. D.; WATANABE, F. M. F.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B.; RODRIGUES, M. L. F. Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, p. 831-831, 2012a.

OLIVEIRA, A. C. D.; MARIANO, A. B. ; WATANABE, F. M. F.; VARGAS, J. V. C.; RODRIGUES, M. L. F. Production of methyl oleate with a lipase from an endophytic yeast isolated from castor leaves. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 295-300, 2012b.

OLIVEIRA, A. C. D.; VARGAS, J.V.C.; MARIANO, A. B.; RODRIGUES, M.L.F. Utilização de resíduos da agroindústria para a produção de enzimas lipolíticas por fermentação submersa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, p. 19-26, 2013.

PULZ, O. Cultivation techniques for microalgae in open and closed ponds. **Proceedings of the 1st European workshop on microalgal biotechnology**. Potsdam, 1992. p 61.

PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototropic microorganisms. **Applied Microbiology e Biotechnology**, v. 57, p. 287-293, 2001.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 261–268, 2009.

RANJBAR, R.; INOUE, R.; KATSUDA, T.; YAMAJI, H.; KATOH, S. High efficiency production of astaxanthin in an airlift photobioreactor. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 106, n. 2, p. 204–207, 2008.

RIBEIRO, R. L. L.; MARIANO, A. B.; SOUZA, J. A.; VARGAS, J. V. C. Transient modeling and simulation of compact photobioreactor. **Engenharia Térmica**, v. 7, p. 66-71, 2008.

RIBEIRO, R. L. L.; MARIANO, A. B.; DILAY, E.; SOUZA, J. A.; ORDONEZ, J. C.; VARGAS, J. V. C. The temperature response of compact tubular microalgae photobioreactors. **Engenharia Térmica**, v. 8, p. 50-55, 2009.

RICHMOND, A. Large scale microalgal culture and applications. In: ROUND, F.E.; CHAPMAN, D.J. **Progress in physiological research**, v. 7, Biopress, Bristol, 1990. p. 269-330.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Blackwell Science, 2004.

RODRIGUES, W. C.. **Apostila de estatística aplicada**. 6. ed., 2008. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/53715597/61/>>. Acesso em: 02/03/2013.

RODRÍGUEZ, J. A.; PALAU, L. C.; LÓPEZ, M. O. A. Extracción y cuantificación de lípidos". In: VEGA, B.O.A.; VOLTOLINA, D. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. 1. ed. La Paz: Centro de Investigaciones biológicas Del Noroeste (CIBNOR), 2007. p. 47 – 57.

RUIZ, J.; ÁLVAREZ, P.; ARBIB, Z.; GARRIDO, C.; BARRAGÁN, J.; PERALES, J.A. Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic in treated urban wastewater by *Chlorella vulgaris*. **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, p. 884–896, 2011.

SATYANARAYANA, K. G.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. **International Journal of Energy Research**, Curitiba, v. 35, p. 291-311, 2011.

SCHROEDER, L.; SCHAFRANSKI, A. S.; MELLO, T. C.; BARBOSA, F. T.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. Methodology for Fatty Acid Extraction from *Scenedesmus spp* Biomass for Production of Biodiesel. In: 21<sup>o</sup> INTERNATIONAL CONGRESS OF MECHANICAL ENGINEERING. 2011, Natal.

SGORLON, J. G.; RIZK, M. C.; BERGAMASCO, R.; TAVARES, C. R. G. Avaliação da DQO e da relação C/N obtidas no tratamento anaeróbio de resíduos fruti-hortícolas. **Acta Scientiarum Technology**, v. 33, p. 421–424, 2011.

SILVA, A. G.; CARTER, R.; MERSS, F. L. M.; CORRÊA, D. O.; VARGAS, J.V.C.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C.; SCHERER, M. D. Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. **Global Change Biology Bioenergy**, 2013 (não publicado).

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 2596-2610, 2010.

SOARES, D. **Avaliação do Crescimento Celular e da 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.

SOARES, D.; MARIANO, A. B.; Becker, A. G.; VARGAS, J. V. C.; LUZ JUNIOR, L. F. L.; NOSEDA, M. D.; MITCHELL, D. A. Metodologias para obtenção de biomassa e extração de lipídeos de microalgas marinhas. In: PEREIRA, T. C. G. (Copel - Paraná). (Org.). **Dossiê de Pesquisa Fontes Renováveis de Energia**. 1ed. Curitiba: Via Laser Gráfica e Editora, 2010, p. 147-159.

SONG, M.; PEI, H.; HU, W.; MA, G. Evaluation of the potential of 10 microalgal strains for biodiesel production. **Bioresource Technology**, article in press, 2013.

SOUSA, C.; COMPADRE, A.; VERMUE, M.H.; WIJFFELS, R.H. Effect of oxygen at low and high light intensities on the growth of *Neochloris oleoabundans*. **Algal Research**, v. 2, p. 122–126, 2013.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSEN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae: Review. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

SUGAI-GUERIOS, M. H.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C.; LUZ JUNIOR, L. F. L.; MITCHELL, D. A. Mathematical model of the CO<sub>2</sub> solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, 2013 (não publicado).

TALEBIAN-KIAKALAIEH, A.; AMIN, N. A. S.; MAZAHERI, H. A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil. **Applied Energy**, v. 104, p. 683-710, 2013.

TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná. **Manual de Biosistemas Integrados na Suinocultura**. Centro de Integração de Tecnologia do Paraná – CITPAR. Telus – Rede Paranaense de Projetos em Desenvolvimento Sustentável. Curitiba, Paraná – 2002. p 140.

TEIXEIRA, C. M.; MORALES, M. E.. Microalga como matéria-prima para a produção de Biodiesel. In: I CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL, 2006, Brasília. **Anais do 1º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel**, 2006. p. 91-96.

TICA, S.; FILIPOVIC, S.; ZIVANOVIC, P.; MILOVANOVIC, B. Test run of biodiesel in public transport system in Belgrade. **Energy Policy**, v. 38, p. 7014–7020, 2010.

TORRENS, J.; VARGAS, J. V. C.; TELLES, E. C.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C. Biodiesel from microalgae: the effect of fuel properties on pollutant emissions. **Engenharia Térmica**, v. 7, p. 35-43, 2008.

TRIANANTAPHYLIDÈS, C.; KRISCHKE, M.; HOEBERICHTS, F.A.; KSAS, B.; GRESSER, G.; HAVAUX, M.; BREUSEGEM, F. V.; MUELLER, M.J. SINGLET

Oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants. **Plant Physiology**, v. 148, p. 960–968, 2008.

UGWU, C.U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4021-4028, 2008.

VARGAS, V. J. C.; BALMANT, W.; STALL, A.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C.; HOVSAPIAN, Z.; DILAY, E. **Photobioreactor System**. US2012088296-A1 / WO2012050608-A1, 12 out. 2011, 12 abr, 2012.

VOLTOLINA, D.; CORDERO, B.; NIEVES, M.; SOTO, L.P. Growth of *Scenedesmus* sp. in artificial waste water. **Bioresource Technology**, v. 68, p. 265–268, 1999.

WANG, L.; LI, Y.; CHEN, P.; MIN, M. CHEN, Y.; ZHU, J.; RUAN, R. R. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2623-2628, 2010.

WOERTZ, I.; FEFFER, A.; LUNDQUIST, T.; NELSON, Y. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. **Journal of Environmental Engineering**, v. 135, n. 11, p. 1115-1122, 2009.

WU, X.; LEUNG, D.Y.C. Optimization of biodiesel production from camelina oil using orthogonal experiment. **Applied Energy**, v.88, p. 3615–3624, 2011.

XIN, L.; HONG-YING, H.; JIA, Y. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. **New Biotechnology**, v. 27, n. 1, p. 59-63, 2010.

XIONG, W.; LI, X.; XIANG, J.; WU, Q. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 78, p.29-36, 2008.

YEN, H-W.; CHIANG, W.-C.; SUN, C.-H. Supercritical fluid extraction of lutein from *Scenedesmus* cultured in an autotrophical photobioreactor. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 43, p. 53–57, 2012.

**ANEXOS**

ANEXO 01 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 138431 (CEPPA) – PERFIL LIPIDICO DO ÓLEO DE MICROALGAS.....	103
ANEXO 02 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 136927 (CEPPA) – DOSAGEM DE NUTRIENTES EM DEJETO SUÍNO BRUTO .....	105
ANEXO 03 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 136926 (CEPPA) – DOSAGEM DE NUTRIENTES EM DEJETO SUÍNO BIORREMEDIADO PELAS MICROALGAS.....	106



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
 SETOR DE TECNOLOGIA  
**CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS**  
 CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01  
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3388-3888 / 3361-3195 - FAX: (41) 3265-1647  
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ



30 ANOS CUMULATIVO QUALIDADE

## CERTIFICADO DE ANÁLISE

# 138431

**PRODUTO:** ÓLEO DE MICROALGAS  
**FABRICANTE/PRODUTOR:** ---x---  
**SOLICITANTE:** DHYOGO MILÉO TAHER  
**ENDEREÇO:** RUA JOÃO SCUISSIATO, 88 - CURITIBA/PR  
**PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N°:** 519 - 28/05/13  
**AMOSTRA:** 1612/13

### Informações da amostra

Acondicionada em:	01 frasco plástico opaco	Temperatura:	Ambiente
Peso/Volume aproximado de:	0,010 gramas	Responsável pela coleta:	Solicitante

## RESULTADOS

### PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
(1) Gordura Total	g/100g	100,00
(2) Composição de Ácidos Graxos		
- Saturados	g/100g	29,12
- Monoinsaturados	g/100g	49,08
- Poliinsaturados	g/100g	20,50
- Trans-isômeros totais	g/100g	1,32
- Não identificados	g/100g	< 0,01
-Outros	g/100g	< 0,01

#### REFERÊNCIAS

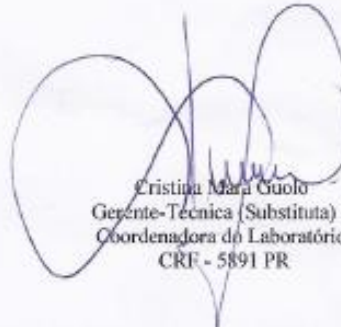
- 1- Instituto Adolfo Lutz, *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4ª ed. Brasília, Anvisa 2008. (Item 032/IV).
- 2- FIRESTONE, P., *Official Methods and Recommended Practices Of the American Oil Chemists Society, AOCS*, 5 th, ed., vol I-II, Champaign, 1998 (Método Ce 1F-96) AOAC. *Official methods of analysis of AOAC international*. 18th ed. Gaithersburg, 2010. (Método 996.06).
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab Practice*, v. 22, n.8, p. 475-476, 1973.
- HOLLAND, B. et al. In: *The composition of foods*. Mc Cance and Widdowson's, Cambridge, UK, 1994, p.8-9.

#### Dados do ensaio:

**Início:** 17/06/13    **Término:** 24/06/13

/K

Curitiba, 24 de junho de 2013

  
 Cristina Maria Guolo  
 Gerente-Técnica (Substituta) e  
 Coordenadora do Laboratório  
 CRF - 5891 PR

**COMPOSIÇÃO PERCENTUAL EM ÁCIDOS GRAXOS**


<b>Ácidos Graxos:</b>	<b>Unidade medida</b>	<b>Resultado</b>
C4:0 – Butírico	g/100 g	0,00
C6:0 – Capríco	g/100 g	0,00
C8:0 – Caprílico	g/100 g	0,00
C10:0 – Cáprico	g/100 g	0,00
C11:0 – Undecanoic	g/100 g	0,00
C12:0 – Laurico	g/100 g	0,00
C13:0 – Tridecanoic	g/100 g	0,00
C14:0 – Merístico	g/100 g	0,00
C15:0 – Pentadecanoico	g/100 g	0,00
C16:0 – Palmítico	g/100 g	24,50
C17:0 – Heptadecanoic	g/100 g	0,00
C18:0 – Esteárico	g/100 g	4,62
C14:1 – Meristoleico	g/100 g	0,00
C15:1 – Pentadecanoíco	g/100 g	0,00
C16:1 – Palmitoleico	g/100 g	3,66
C17:1 – Heptadecanoic	g/100 g	0,00
C18:1n9c – Oleico	g/100 g	45,42
C18:1n-79 – Eláidico	g/100 g	0,43
C18:2n6t – Linoleico	g/100 g	0,89
C18:2n6c – Linoleico	g/100 g	13,08
C18:3n3 – Linolênico	g/100 g	6,76
C18:3n6 – Linolênico	g/100 g	0,00
C20:0 – Araquídico	g/100 g	0,00
C20:2 – Eicosadienoic	g/100 g	0,67
C20:3n6 – Eicosatrienoic	g/100 g	0,00
C20:3n3 – Eicosatrienoic	g/100 g	0,00
C20:4n6 – Arachidonico	g/100 g	0,00
C20:5n3 – Eicosapentaenoico	g/100 g	0,00
C20:1 – Eicoseinoico	g/100 g	0,00
C21:0 – Heneicosanoic	g/100 g	0,00
C22:0 – Behênico	g/100 g	0,00
C22:1n9 – Erucico	g/100 g	0,00
C22:2 – Docosadienoico	g/100 g	0,00
C22:6n3 – Docosahexadienoico	g/100 g	0,00
C23:0 – Tricosanoico	g/100 g	0,00
C24:0 – Lingnocérico	g/100 g	0,00
C24:1 – Nervonico	g/100 g	0,00
Não identificados	g/100 g	0,00
Outros	g/100 g	0,00

**Dados do ensaio:**

Início: 17/06/13 Término: 24/06/13

/K

Curitiba, 24 de junho de 2013



Cristina Mara Grilo  
Gerente-Técnica (Substituta) e  
Coordenadora do Laboratório  
CRF - 5891 PR



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SETOR DE TECNOLOGIA

**CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS**

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01  
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3256-1647  
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ



30 ANOS GARANTINDO QUALIDADE

## CERTIFICADO DE ANÁLISE

136927

**PRODUTO:** AMOSTRA DEJETO

**FABRICANTE/PRODUTOR:** ---X---

**SOLICITANTE:** DHYOGO MILÉO TAHER

**ENDEREÇO:** RUA JOÃO SCUISSATO, 88 – CURITIBA/PR

**PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº:** 80 – 29/01/13

**AMOSTRA:** 0301/13

### Informações da amostra

Data da coleta: 28/01/13	Hora da coleta: 12h	Responsável pela coleta: solicitante
O CEPPA não se responsabiliza pela coleta realizada pelo solicitante.		

### RESULTADOS

#### PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Unidade de medida	Resultado
(1) Fosfato	mg P/L	74,32
(2) Nitrato	mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N/L	0,56
(3) Nitrito	mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> - N/L	0,16
(4) Nitrogênio Kjeldahl Total	mg NH <sub>3</sub> - N/L	2.606,47
(4) Nitrogênio Orgânico	mg/L	418,59
(5) Nitrogênio Amoniacal	mg NH <sub>3</sub> - N/L	2.187,88

#### REFERÊNCIAS

- 1- STANNOUS CHLORIDE method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-152-153 (Method 4500-P D).
- 2- CADMIUM Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-123-125 (Method 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; E).
- 3- COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005.p. 4-118-119 (Method 4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>; B).
- 4- MACRO-KJELDAHL method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p.4-131-132 (Method 4500-N<sub>org</sub>; B).
- 5- PRELIMINARY Distillation Step. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-109-110 (Method 4500-NH<sub>3</sub>; B). TITRIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>th</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-110-111 (Method 4500-NH<sub>3</sub>; C).

#### Dados do ensaio:

Início: 29/01/13 Término: 08/02/13

Executoras: Maria Judite Dzuman e Valdirene Barão.

/K

Curitiba, 08 de Fevereiro de 2013

Miriam Reikdal Medeiros  
 Gerente Técnica  
 CRQ 09200830 – 9ª região

Jacqueline Taveira Cangussu  
 Coordenadora do Laboratório (substitua)  
 CRQ 09200768 – 9ª região



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

01/01

SETOR DE TECNOLOGIA

## CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS

CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS USINAS PILOTO - BLOCO B - SALA PP01  
 CX. P. 19.083 - FONES: (41) 3366-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 3266-1647  
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ



30 ANOS GARANTINDO QUALIDADE

## CERTIFICADO DE ANÁLISE

136926

**PRODUTO:** AMOSTRA SN

**FABRICANTE/PRODUTOR:** ---x---

**SOLICITANTE:** DHYOGO MILÉO TAHER

**ENDEREÇO:** RUA JOÃO SCUISSATO, 88 – CURITIBA/PR

**PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº:** 80 – 29/01/13

**AMOSTRA:** 0300/13

### Informações da amostra

Data da coleta: 28/01/13	Hora da coleta: 12h	Responsável pela coleta: solicitante
O CEPPA não se responsabiliza pela coleta realizada pelo solicitante.		

### RESULTADOS

#### PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO

	Unidade de medida	Resultado
(1) Fosfato	mg P/L	0,05
(2) Nitrato	mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N/L	21,79
(3) Nitrito	mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> - N/L	1,12
(4) Nitrogênio Kjeldahl Total	mg NH <sub>3</sub> - N/L	7,53
(4) Nitrogênio Orgânico	mg/L	7,53
(5) Nitrogênio Amoniacal	mg NH <sub>3</sub> - N/L	< 1,00

#### REFERÊNCIAS

- 1- STANNOUS CHLORIDE method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4:152-153 (Method 4500-P D).
- 2- CADMIUM Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4:123-125 (Method 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> E).
- 3- COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005.p. 4:118-119 (Method 4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> B).
- 4- MACRO-KJELDAHL method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p.4:131-132 (Method 4500-N<sub>org</sub> B).
- 5- PRELIMINARY Distillation Step. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4:109-110 (Method 4500-NH<sub>3</sub> B). TITRIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21<sup>st</sup> ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4:110-111 (Method 4500-NH<sub>3</sub> C).

#### Dados do ensaio:

Início: 29/01/13 Término: 08/02/13

Executoras: Maria Judite Dzuman e Valdirene Barão.

/K

Curitiba, 08 de Fevereiro de 2013

Mirian Reikdal Medeiros  
 Gerente Técnica  
 CRQ 09200830 – 9ª região

Jackeline Taveira Cangussi  
 Coordenadora do Laboratório (substituta)  
 CRQ 09200768 – 9ª região