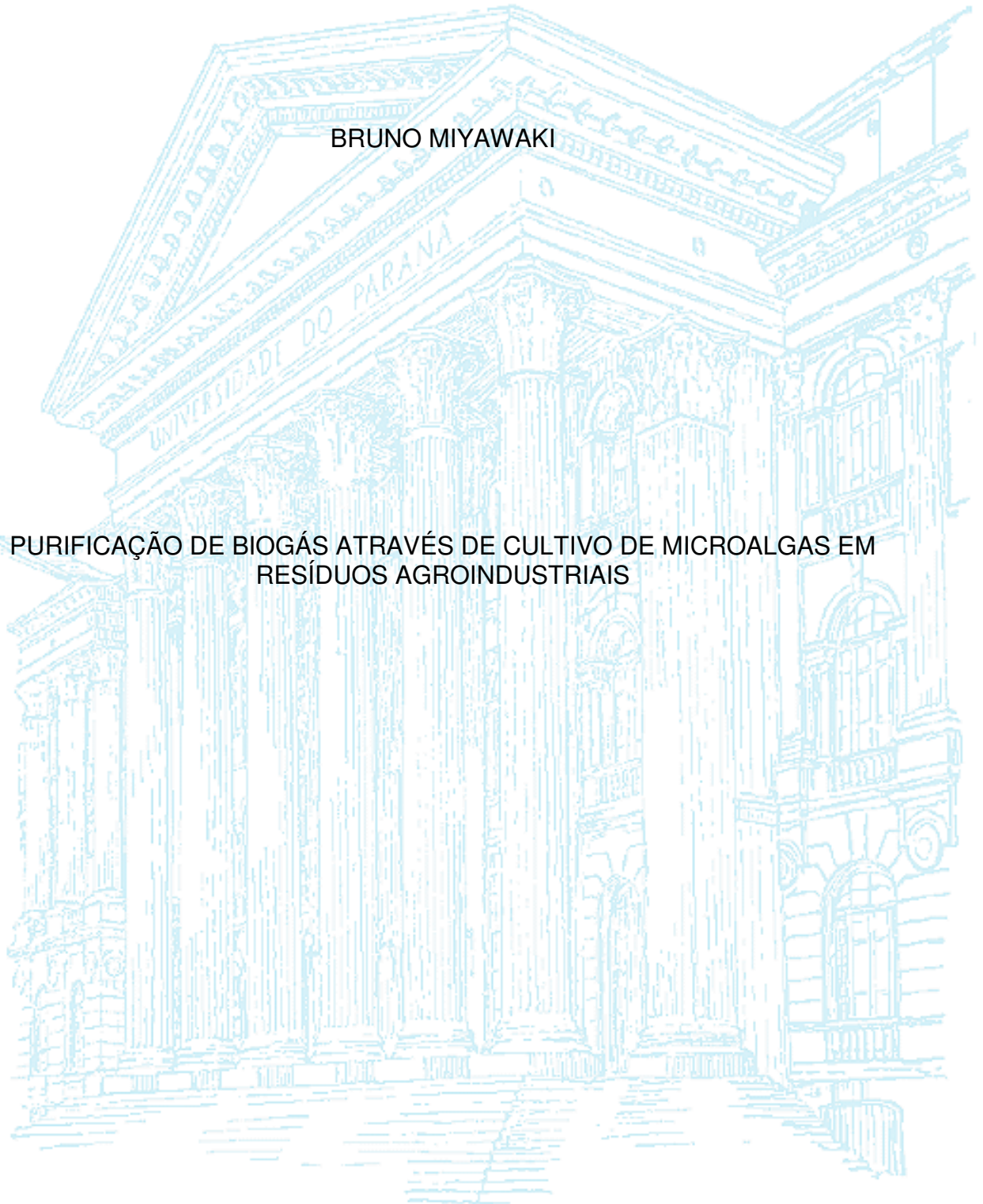


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNO MIYAWAKI

PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

CURITIBA
2014



BRUNO MIYAWAKI

PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM
RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

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
2014

M679p

Miyawaki, Bruno

Purificação de biogás através de cultivo de microalgas em resíduos agroindustriais / Bruno Miyawaki. – Curitiba, 2014.
137f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2014.

Orientador: André Bellin Mariano.

Bibliografia: p. 117-130.

1. Biogas. 2. Microalgas. 3. Resíduos agrícolas. I. Universidade Federal do Paraná. II. Mariano, André Bellin. III. Título.

CDD: 665.776



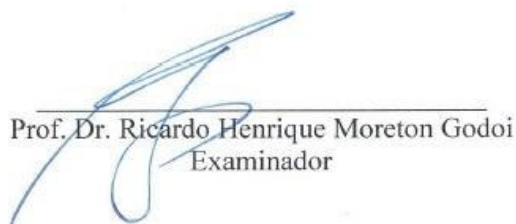
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais- PIPE
Setor de Tecnologia

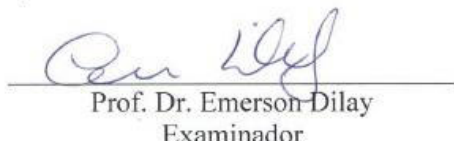
RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e cinco dias do mês de fevereiro de 2014, na Sala PE - 03 - no Centro Politécnico - UFPR, foi instalada pela Prof.^a Dr.^a Ana Sofia Clímaco Monteiro de Oliveira, coordenadora do PIPE – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, a Banca Examinadora para a ducentésima sexagésima quinta 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), Ricardo Henrique Moreton Godoi (UFPR), Emerson Dilay (UNICENP). Às 10:00 horas, a banca iniciou os trabalhos, convidando o candidato **BRUNO MIYAWAKI** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada **“PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS”**. 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, 25 de fevereiro de 2014.


Prof. Dr. André Bellin Mariano
Orientador


Prof. Dr. Ricardo Henrique Moreton Godoi
Examinador


Prof. Dr. Emerson Dilay
Examinador

*À Deus e toda minha família,
fonte de fé, união e amor.
Em especial a Shoichi Miyawaki
(em memória), por todos os
aprendizados da vida.
Gratidão.*

AGRADECIMENTOS

O coração bate mais forte e as lembranças vêm à tona. Agradecer com certeza é a parte mais emocionante!!! Foi uma longa jornada e a sola do pé bem conhece cada passo dado nesta estrada.

À Deus o meu maior agradecimento, obrigado pela oportunidade de viver, respirar e trabalhar.

Aos meus queridos pais Sueli Miyawaki e Shoichi Miyawaki (em memória) que me trouxeram a este mundo e dedicaram suas vidas por mim, me dando amor verdadeiro, conselhos indispensáveis e correções necessárias.

À minha irmã Karina Myo Miyawaki, pelo carinho, força e amor. Por estarmos sempre juntos nos momentos mais importantes, por contar com você sempre que precisei.

Ao meu orientador Prof. Dr. André Bellin Mariano, por ter acreditado em meu potencial. Obrigado pelo companheirismo na orientação desta dissertação e nas muitas discussões realizadas.

Ao meu coorientador Prof. PhD. José Viriato Coelho Vargas, pela credibilidade e experiência que o diferencia como educador, e por sua disposição em colaborar com este trabalho.

Aos amigos e companheiros de trabalho do NPDEAS, pela força e amizade que partilhamos durante essa jornada!!! Carregando dejetos e rindo da vida, nos momentos difíceis tirando sarro de tudo. A felicidade é a própria caminhada, e é ela que faz todo esforço valer a pena.

À UFPR e ao departamento de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais pela oportunidade de realização deste mestrado.

À CAPES, CNPq e Nilko pelo apoio financeiro.

À todos amigos, professores e familiares que passaram em minha vida me dando força e participando de alguma forma na realização deste tão desejado sonho.

Muito Obrigado!!!

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos”.

Fernando Pessoa

RESUMO

A necessidade de atender a demanda de energia do mundo e reduzir os impactos ambientais causados pelos resíduos provenientes das atividades humanas são um dos principais desafios da atualidade. Diante deste cenário, a captura e posterior utilização do biogás produzido na degradação da matéria orgânica como fonte de energia se apresenta como uma alternativa a ser avaliada. Todavia, a presença de impurezas no biogás como o dióxido de carbono e o ácido sulfídrico limita sua qualidade para utilização como fonte energética. Uma das possibilidades para melhorar o aproveitamento do biogás consiste em eliminar da sua composição o dióxido de carbono (CO₂). O CO₂ pode ser biologicamente convertido em matéria orgânica por microrganismos fotossintetizantes como as microalgas. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de purificação do biogás derivado da biodigestão de efluente suíno, através do cultivo da microalga *Scenedesmus disciformis* em fotobiorreator *airlift* (12 L), desenvolvido para essa finalidade. Para este estudo, como meio de cultura alternativo foram utilizados os efluentes biodigeridos suíno, esgoto sanitário e bovino diluídos em 05% (v/v), 25% (v/v) e 30% (v/v) respectivamente, e comparados ao meio sintético CHU utilizado como controle. Além da purificação do biogás pela cultura de microalgas, testou-se a capacidade de crescimento das microalgas através da injeção controlada de biogás nos cultivos. Determinou-se a taxa de crescimento celular e biomassa seca dos cultivos de microalgas diariamente. Os melhores resultados obtidos foram com o meio suíno 05% com injeção de biogás, alcançando a concentração celular de $13257 \pm 430 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ e $2,0 \pm 0,16 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa seca com teor de 26% de lipídeos. O biogás purificado apresentou uma concentração média de 91% (v/v) de CH₄. O poder calorífico do biogás aumentou de 5592 kcal.m^{-3} para 8372 kcal.m^{-3} . Com relação à biorremediação, a microalga *Scenedesmus disciformis* foi capaz de remover 99,3% do nitrogênio amoniacal e 99,2% da concentração de fósforo do efluente suíno. Os resultados demonstram o potencial das microalgas para purificar biogás e biorremediar efluentes, diminuindo os custos de produção concomitantemente a produção de biomassa microalgal.

Palavras-chave: biogás, microalgas, efluentes, biorremediação, *airlift*.

ABSTRACT

Reduce greenhouse gas emissions in the atmosphere and increase energy supply are the main challenges. Thus, the use of biogas as an energy source shows promising especially in agricultural regions where there is a large availability of waste that can be turned into energy, reducing production costs and environmental impacts. However, the presence of impurities in the biogas reduces its quality. One alternative to improve the utilization of biogas is to eliminate impurities of your composition, such as carbon dioxide (CO₂). The CO₂ can be biologically converted into organic matter by photosynthetic organisms such as microalgae. This study evaluated the process of purification of biogas derived from the digestion of wastewater through the autotrophic cultivation of microalgae *Scenedesmus disciformis*. The experiments were performed in airlift photobioreactors (12 L) at ambient conditions. Three diluted biodigester effluents as alternative culture were used (pig manure 5%, domestic sewage 25% and cattle manure 30%). In these experiments, the capacity to growth of microalgae with injection of biogas into the culture was verified, as well the biogas purification by the system. The maximum biomass productivity obtained in the cultures was $2.0 \pm 0.16 \text{ g.L}^{-1}$ yielding a level of 26% lipids for the pig manure with injection of biogas. The maximum cell concentration obtained was $13257 \pm 430 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ with pig manure and biogas. The concentration of methane in the biogas purified reached 95% (v/v), with 88% efficiency in the enrichment of biogas. The calorific value increased from 5592 to 8372 kcal.m⁻³. The microalgae *Scenedesmus disciformis* was able to remove 60-99.3% of the nutrients of the pig effluent (nitrite, ammonia and phosphorus). These results demonstrate the high efficiency of microalgae for purifying biogas and its ability to bioremediate urban and agroindustrial effluent, reducing the production cost and producing high quality biomass.

Keywords : biogas, microalgae, effluent, bioremediation, airlift .

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – ESTIMATIVA DO POTENCIAL DE GERAÇÃO DE ENERGIA DO BIOGÁS PROVENIENTE DA CRIAÇÃO DE SUÍNOS NOS MUNICÍPIOS DA REGIÃO SUL DO BRASIL.....	26
FIGURA 02 – INTERIOR DE UMA PLANTA DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS POR MEMBRANAS.....	30
FIGURA 03 – FLUXO ESQUEMÁTICO PARA REMOÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO A PARTIR DO BIOGÁS POR LAVAGEM DE GÁS.....	31
FIGURA 04 – CAPTAÇÃO DE IMPUREZAS DO BIOGÁS PELO PROCESSO DE ADSORÇÃO.....	33
FIGURA 05 – ESQUEMA SIMPLIFICADO DO PROCESSO DE FOTOSSÍNTESE.....	34
FIGURA 06 – PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM SISTEMAS ABERTOS ..	49
FIGURA 07 – FOTOBIOREATOR DE PLACA PLANA PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS.....	51
FIGURA 08 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE FOTOBIOREADORES TUBULARES HORIZONTAIS, COM UMA UNIDADE DE TROCA DE GASES E UMA UNIDADE DE COLHEITA DE LUZ	52
FIGURA 09 – FOTOBIOREADORES TUBULARES COMPACTOS DESENVOLVIDOS PELO NPDEAS-UFPR.....	53
FIGURA 10 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO FOTOBIOREADORES TUBULARES VERTICAIS.....	54
FIGURA 11 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO NPDEAS.....	57
FIGURA 12 – BIODIGESTOR MODULAR DE FLUXO ASCENDENTE DESENVOLVIDO PELO NPDEAS.....	57
FIGURA 13 – FLUXOGRAMA DAS METAS E ESTRATÉGIAS DE TRABALHO	62
FIGURA 14 – MICROGRAFIA DO “MIX” DE MICROALGAS COM AUMENTO DE 400X COM A PREDOMINÂNCIA DA ESPÉCIE <i>Scenedesmus disciformis</i>	63

FIGURA 15 – CULTIVO DE MICROALGAS EM ESCALA LABORATORIAL	64
FIGURA 16 – FOTOBIOREACTORES <i>AIRLIFTS</i>	65
FIGURA 17 – BIODIGESTOR ANAERÓBICO DO CTP DE CASTROLANDA.	67
FIGURA 18 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO FOTOBIOREATOR TUBULAR <i>AIRLIFT</i>	69
FIGURA 19 – KIT BIOGÁS DESENVOLVIDO PELA EMBRAPA	70
FIGURA 20 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE NA CULTURA DE MICROALGAS COMO FONTE DE CARBONO	72
FIGURA 21 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS PELO CULTIVO DE MICROALGAS.....	73
FIGURA 22 – PROCESSO DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA E FILTRAÇÃO	79
FIGURA 23 – FLUXOGRAMA DA APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS OBTIDOS.....	83
FIGURA 24 – FOTOBIOREARTOR MODELO COLUNA DE BOLHAS	84
FIGURA 25 – FOTOBIOREATOR MODELO AIRLFIT DE CIRCULAÇÃO EXTERNA	85
FIGURA 26 – TEMPO DE MISTURA PARA VAZÃO DE 1 L.min ⁻¹	87
FIGURA 27 – CURVAS DE CRESCIMENTO CELULAR DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO	89
FIGURA 28 – CURVAS DE BIOMASSA SECA DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO	91
FIGURA 29 – TURBIDEZ DOS MEIOS DE CULTIVOS UTILIZADOS	93
FIGURA 30 – CURVAS DE CRESCIMENTO CELULAR DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO UTILIZANDO AR AMBIENTE E BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO.....	99

FIGURA 31 – CURVAS DE BIOMASSA SECA DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO UTILIZANDO AR AMBIENTE E BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO	100
FIGURA 32 – PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS EM CULTIVO FOTOAUTÓTRÓFICO DE MICROALGAS	106
FIGURA 33 – COMPARAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO pH APÓS A PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS POR CULTIVO DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS.....	107
FIGURA 34 – CONCENTRAÇÃO DE H_2CO_3 PRESENTE NOS MEIOS APÓS O TÉRMICO DA PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS.....	109
FIGURA 36 – ASPECTO DA TURBIDEZ DO EFLUENTE ANTES E DEPOIS DO CULTIVO COM MICROALGAS	114

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DOS MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS	28
TABELA 02 – RENDIMENTO ANUAL DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	39
TABELA 03 – NÍVEIS DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS	40
TABELA 04 – CONCENTRAÇÕES DE NUTRIENTES PRESENTES NOS EFLUENTES SUÍNO, BOVINO E ESGOTO SANITÁRIO APÓS O TRATAMENTO POR BIODIGESTÃO ANAERÓBIA.....	46
TABELA 05 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS DESENVOLVIDAS NO NPDEAS.....	58
TABELA 06 – PRINCIPAIS EDITAIS DE PROJETOS EXECUTADOS NO NPDEAS	59
TABELA 07 – COMPOSIÇÃO E CUSTOS DO MEIO CHU.....	67
TABELA 08 – TEMPOS DE CIRCULAÇÃO OBTIDOS PELO MÉTODO DA ESFERA.....	86
TABELA 09 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO.....	92
TABELA 10 – CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS MEIOS DE CULTIVO UTILIZADOS.....	92
TABELA 11 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO CHU E MEIO ESGOTO SANITÁRIO 25%	94
TABELA 12 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DOS CULTIVOS EM MEIO CHU E MEIO SUÍNO 05%.....	95
TABELA 13 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DOS CULTIVOS EM MEIO CHU E MEIO BOVINO 30%.....	96

TABELA 14 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO SUÍNO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE	102
TABELA 15 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO BOVINO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE	103
TABELA 16 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO ESGOTO SANITÁRIO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE.	104
TABELA 17 – CARACTERÍSTICAS DO BIOGÁS ANTES E DEPOIS DA PURIFICAÇÃO.....	110
TABELA 18 – RENDIMENTOS DE PRODUTIVIDADE DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO.....	112
TABELA 19 – BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE SUÍNO APÓS A SEPARAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS.....	113

LISTA DE SIGLAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANP – Agência Nacional do Petróleo
- CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- CTP – Centro de Treinamento de Pecuaristas de Castrolândia
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- EMBRAPA – Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária
- EUA – Estados Unidos da América
- NPDEAS – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Energia
Autossustentável
- UFPR – Universidade Federal do Paraná

LISTA DE ABREVIATURAS

ARL	– Airlift
ATP	– adenosina trifosfato
ADP	– adenosina difosfato
BM	– Bold Basal Medium
BHT	– Butil-hidroxitolueno
cél	– Células
cm	– centímetros
cm ³	– centímetros cúbicos
DBO	– Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	– Demanda Química de Oxigênio
E_{CapCO_2}	– Eficiência de captura de CO ₂
E_{EnrCH_4}	– Eficiência de enriquecimento do biogás
(e) exp	– exponencial
FBR	– Fotobiorreator
g	– grama
ha	– hectare
Kg	– kilograma
Kcal	– kilocaloria
L	– litro
M	– metro
m ²	– metros quadrados
m ³	– metros cúbicos
mg	– miligramas
min	– minuto
mL	– mililitro
NAD	– Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADPH	– Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
nm	– nanômetros
N _{máx}	– densidade celular máxima (células.mL ⁻¹)
N ₀	– densidade celular inicial (células.mL ⁻¹)

NBR	– norma brasileira
°C	– graus celcius
pH	– potencial hidrogeniônico
ppm	– partes por milhão
PVC	– Policloreto de vinila
rpm	– rotações por minuto
µm	– micrômetro
µ	– velocidade específica de crescimento (dia^{-1});
t	– tempo
tc	– tempo de circulação
tm	– tempo de mistura
V	– volume

LISTA DE SÍMBOLOS

β – beta

% – porcentagem

Δ – delta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
2.1 FONTES DE ENERGIA.....	24
2.2.PRODUÇÃO DE BIOGÁS.....	25
2.2.1 Purificação de biogás	27
2.2.1.1 Purificação por membrana	29
2.2.1.2 Lavagem de gás.....	30
2.2.1.3 Purificação criogênica	31
2.2.1.4 Purificação por adsorção.....	32
2.2.1.5 Purificação biológica de dióxido de carbono	34
2.3 BIODIESEL	36
2.3.1 Biodiesel de microalgas.....	38
2.4 MICROALGAS	41
2.4.1 <i>Scenedesmus</i> sp.....	43
2.4.2 <i>Spirulina</i>	43
2.4.3 <i>Chlorella</i> sp	44
2.4.4 <i>Dunaliella salina</i>	44
2.4.5 <i>Haematococcus pluvialis</i>	45
2.4.6 Meios de cultivo.....	45
2.4.7 Meios de cultivos alternativos.....	46
2.5 PRODUÇÃO DE MICROALGAS.....	47
2.5.1 Sistemas abertos.....	48
2.5.2 Sistemas fechados	49
2.5.2.1 Fotobiorreatores de placa plana	50
2.5.2.2 Fotobiorreatores tubulares horizontais	51
2.5.2.3 Fotobiorreatores tubulares verticais	53
2.6 NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE ENERGIA AUTOSSUSTENTÁVEL (NPDEAS)	56
3 DESAFIOS	60
4 OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS	61
4.1 OBJETIVO GERAL	61

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	61
5 MATERIAIS E MÉTODOS	63
5.1 MICROALGAS	63
5.2 MEIOS DE CULTURA E CONDIÇÕES DE CULTIVO	64
5.2.1 Meio CHU	65
5.2.2 Meios de cultura alternativos	66
5.2.2.1 Meio efluente bovino	67
5.2.2.2 Meio efluente suíno	67
5.2.2.3 Meio efluente esgoto sanitário	68
5.2.3 Fotobiorreator <i>airlift</i>	68
5.3 PRODUÇÃO DE BIOGÁS	69
5.3.1 Avaliação da composição do biogás	70
5.4 UTILIZAÇÃO DE BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS	71
5.5 PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS	72
5.6 AVALIAÇÃO DO CULTIVO	74
5.6.1 Caracterização da cinética de crescimento	74
5.6.2 Determinação da biomassa seca	75
5.6.3 Produtividade em biomassa	76
5.6.4 Lipídeos totais	77
5.6.5 Determinação do pH dos cultivos	78
5.6.6 Separação da biomassa e clarificado	79
5.7 AVALIAÇÃO DA BIORREMEDIAÇÃO DOS RESÍDUOS	80
5.8 PARÂMETROS HIDRODINÂMICOS DO FOTOBIORREATOR	80
5.8.1 Tempo de circulação	81
5.8.2 Tempo de mistura	81
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	82
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
6.1 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS HIDRODINÂMICOS DO FOTOBIORREATOR	84
6.1.1 Tempo de circulação	86
6.1.2 Tempo de mistura	87
6.2 CULTIVO <i>MIX</i> DE MICROALGAS EM FOTOBIORREATOR <i>AIRLIFT</i>	88
6.2.1 Caracterização da cinética de crescimento	88

6.3 UTILIZAÇÃO DE BIOGÁS COMO FONTE DE DIÓXIDO DE CARBONO E PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS PELO CULTIVO AUTOTRÓFICO DE MICROALGAS.	98
6.3.1 Efeitos da utilização de biogás no cultivo de microalgas.....	98
6.3.2 Purificação de biogás por microalgas.....	105
6.4 QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDEOS TOTAIS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA BIOMASSA DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL.....	112
6.5 BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES.....	113
7 CONCLUSÕES.....	115
7.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	116
REFERÊNCIAS.....	117
ANEXOS.....	131

INTRODUÇÃO

A crise energética enfrentada pelo mundo tem sua origem no esgotamento previsível das fontes de energia atualmente disponíveis, podendo ser citadas o petróleo, o gás e o carvão. Em um curto período de tempo estes recursos produziram grandes concentrações de poluentes, precursores de diversos problemas ambientais enfrentados pela humanidade. A instabilidade do preço do petróleo, a poluição ambiental e o crescimento na demanda de energia tornaram-se questões importantes nos dias de hoje.

Diante desse cenário, a utilização de fontes renováveis de energia se mostra uma opção promissora para contornar a crise atual. O biogás produzido a partir da biodigestão anaeróbia de resíduos biológicos é uma mistura de metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2), sulfeto de hidrogênio (H_2S) e vários hidrocarbonetos menores. Apresenta-se como um potencial combustível para geração de energia e pode ser utilizado com os mesmos padrões do gás natural fóssil quando purificado. Contudo, a alta concentração de H_2S presente no biogás pode corroer motores, dutos e estruturas de armazenamento.

Após os processos iniciais de remoção de sulfeto de hidrogênio, o biogás ainda apresenta elevado teor de CO_2 , que reduz o seu poder calorífico e aumenta a emissão de monóxido de carbono e de hidrocarbonetos quando realizada sua queima em motores. A presença de altas concentrações de CO_2 faz com que o biogás seja mais custoso para ser comprimido e transportado em comparação ao gás natural. Além disso, a captura do dióxido de carbono presente no biogás pode melhorar a eficiência do motor. Várias estratégias de investigação sobre o sequestro de CO_2 têm sido realizadas, incluindo métodos físicos, químicos e biológicos.

O dióxido de carbono pode ser biologicamente convertido em matéria orgânica por microrganismos fotossintetizantes como as microalgas, e essa matéria pode ser transformada em produtos de alto valor agregado como o bioetanol, biocombustível e aminoácidos (PULZ e GROSS, 2004; SKJANES *et al.*, 2007). Desta forma, uma alternativa para o sequestro de dióxido de carbono é o processo de fixação biológica por microalgas. Quando comparadas às plantas terrestres as microalgas apresentam maiores taxas de fixação de

dióxido de carbono. Assim sendo, estes microrganismos podem utilizar o CO₂ presente no biogás para produção de biomassa (COSTA *et al.*, 2000). A fração lipídica da biomassa de microalgas produzida pode ser extraída e transesterificada para produção de biocombustíveis (MORAIS e COSTA, 2007). Os produtos presentes na biomassa como proteínas, pigmentos e enzimas podem ser comercializados com o objetivo de aumentar a viabilidade comercial de tais empreendimentos.

Apesar de todos os avanços tecnológicos nesta área, os custos de produção e de operação dos sistemas de produção de microalgas ainda são muito altos. A combinação da produção de microalgas e remoção de nutrientes de águas residuais se apresenta como alternativa para o crescimento desses organismos, eliminando a necessidade de meios sintéticos, reduzindo os custos de produção, paralelamente ao tratamento de passivos ambientais.

Neste estudo os perfis de crescimento da microalga cultivada em concentrações de CH₄ e CO₂ foram avaliados, assim como os parâmetros físico-químicos e biológicos do processo.

Para a determinação da aplicação desta tecnologia em escala laboratorial foi desenvolvido um fotobiorreator modelo *airlift* para cultivos de microalgas em diferentes meios alternativos, visando fixar o CO₂ presente no biogás produzido na digestão anaeróbia de efluentes agroindustriais. O processo de purificação do biogás foi aplicado com objetivo de aumentar o poder calorífico do gás e sua qualidade. Todos os experimentos foram realizados em ambiente externo e sem controle de temperatura e luminosidade, na cidade de Curitiba - PR.

Este estudo avaliou o processo de purificação do biogás pelo cultivo autotrófico de microalgas, com o objetivo de melhorar o desempenho do processo como um todo, através da redução da emissão de gases poluentes e gerando uma fonte de biomassa para a produção de biocombustíveis, através de um processo biotecnológico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FONTES DE ENERGIA

Dentre as reservas de energia presentes na natureza que são utilizadas para atender as necessidades humanas são encontrados os recursos fósseis e os recursos energéticos renováveis. Os recursos fósseis provêm de reservas armazenadas na natureza como o carvão mineral, o petróleo e o gás natural (WEIGMANN, 2004). Os recursos renováveis são originados por fluxos naturais, como a energia solar, a energia hidráulica, eólica, a energia gerada pelas ondas do mar e a energia da biomassa como, por exemplo, o biodiesel e o biogás.

Entre os recursos energéticos utilizados atualmente no mundo, os combustíveis fósseis estão no centro das demandas globais de energia. No entanto, as reservas de combustíveis são limitadas e sua utilização em larga escala segue associada com a degradação ambiental. Os resultados da utilização indiscriminada das fontes fósseis de energia foram o rápido crescimento no nível de emissões de gases poluentes na atmosfera e o aumento dos preços dos combustíveis, as duas principais forças motrizes por trás dos esforços para utilizar fontes de energias renováveis (BANOS *et al.*, 2011).

Energia renovável pode ser definida como um recurso sustentável disponível em longo prazo a um custo razoável, que pode ser usado para qualquer tarefa minimizando impactos ambientais, com base nas necessidades econômicas e sociais atuais e futuras (DINCER, 1999). Pontos positivos na utilização da energia sustentável são o aumento da diversidade de opções de fornecimento de energia, a menor dependência de combustíveis fósseis, o aumento de empregos, a criação de mercados de exportação e a redução nas emissões poluentes na atmosfera (PANWAR *et al.*, 2011).

Estudos recentes publicados pela Agência Internacional de Energia (IEA, 2010) mostram que será necessário o desenvolvimento de uma ampla variedade de tecnologias de energia renovável para enfrentar os desafios do

desenvolvimento energético sustentável nos próximos anos. Note-se que muitos países fizeram progressos significativos na promoção de fontes renováveis de energia. Energias renováveis como solar, eólica, hídrica e biogás são candidatos para atender às necessidades globais de forma sustentável (MUNEER *et al.*, 2006). Entretanto, diversos fatores influenciam no sucesso do desenvolvimento dessas tecnologias, tais como, problemas de motivação política e financeira, de capacitação tecnológica e de informação, educação e treinamento.

2.2. PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Tendo origem no processo de biodegradação anaeróbia da matéria orgânica, isto é, sem a presença de oxigênio, o biogás é parte importante do ciclo do carbono. A cada ano são lançados aproximadamente 550 milhões de toneladas de metano na atmosfera pela atividade microbiana. Considerando-se as fontes de emissões antropogênicas como a indústria petrolífera, mineração de carvão, resíduos de animais e a degradação anaeróbia de resíduos, ao todo as atividades humanas são responsáveis por dois terços das emissões de metano na atmosfera (GTZ, 2000).

O tratamento biológico dos resíduos sólidos e líquidos emprega a tecnologia de degradação anaeróbia gerando biogás. A produção de biogás oferece um caminho atraente como forma de utilizar diferentes fontes de biomassa para satisfazer as necessidades energéticas atuais. De fato, o bom funcionamento dos sistemas de produção de biogás pode proporcionar vários benefícios aos usuários e à comunidade, resultando na proteção dos recursos naturais e na conservação ambiental (SANTOSH *et al.*, 2004). Ao contrário de outras formas de energia renovável, o biogás não apresenta qualquer limitação geográfica, e a tecnologia necessária para a produção de energia é simples e de fácil operação (TALEGHANI; KIA, 2005).

Nas regiões onde a atividade agropecuária é intensa encontram-se subprodutos oriundos da produção agrícola e pecuária, que podem ser convertidos em fontes energéticas através da biomassa e do biogás.

Na FIGURA 01 é apresentado o mapa do potencial de geração de energia a partir do biogás proveniente da suinocultura para os municípios da região Sul do Brasil. Pode-se observar que há uma concentração de potencial na região oeste e central do Paraná, oeste de Santa Catarina e noroeste do Rio Grande do Sul.

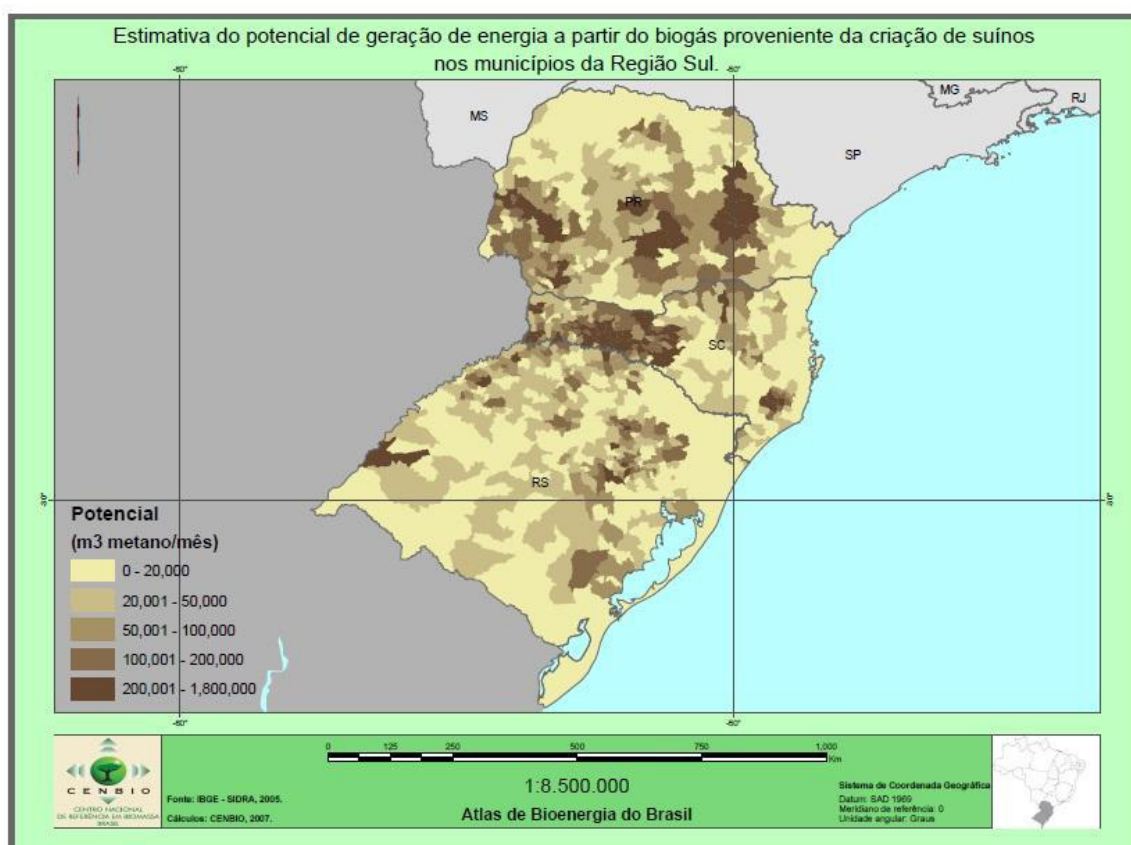


FIGURA 01 – ESTIMATIVA DO POTENCIAL DE GERAÇÃO DE ENERGIA DO BIOGÁS PROVENIENTE DA CRIAÇÃO DE SUÍNOS NOS MUNICÍPIOS DA REGIÃO SUL DO BRASIL. FONTE: IBGE - SIDRA, 2007.

Os componentes mais importantes presentes no biogás são o metano (CH_4) 45-70% (v/v), o dióxido de carbono (CO_2) 30-55% (v/v) e o ácido sulfídrico (H_2S) 0-1% (v/v) (COELHO *et al.*, 2006; ANUNPUTTIKUL e RODTONG, 2004). Devido ao elevado teor de metano, o biogás se apresenta como uma fonte atraente de energia. O biogás produzido a partir da biodigestão anaeróbia quando purificado pode ser utilizado com o mesmo padrão do gás natural fóssil (ABATZOGLOU e BOIVIN, 2009; AJHAR *et al.*, 2010).

A composição do biogás é um parâmetro essencial para a identificação do sistema mais adequado de purificação, que visa eliminar os contaminantes como gás sulfídrico, umidade e também diminuir a concentração de dióxido de carbono contribuindo para melhorar a sua combustão (COELHO *et al.*, 2006).

As concentrações de H₂S presentes no biogás podem comprometer o bom funcionamento de motores e corroer dutos e estruturas de armazenamento (CHO *et al.*, 2000; CHUNG *et al.*, 2006). No entanto, após a remoção de H₂S, a presença de CO₂ no biogás reduz o seu poder calorífico quando usado como combustível (PORPATHAM *et al.*, 2007). Além disso, o elevado teor de CO₂ torna o armazenamento e o transporte do biogás inviáveis economicamente. Portanto, a captura de CO₂ é uma etapa essencial para melhorar a utilização do biogás.

Existem várias formas de reduzir a concentração de CO₂ presente no biogás, tais como métodos físicos, químicos e biológicos. O método biológico de fixação de CO₂ que através da fotossíntese converte CO₂ em biomassa é um método promissor (HO *et al.*, 2011; DEMIRBAS, 2011). A biomassa produzida pode ser utilizada como matéria-prima para produção de biocombustíveis, tornando mais rentável o processo de purificação.

A escolha de uma tecnologia economicamente viável para purificação de biogás é fortemente dependente da qualidade e quantidade do biogás bruto que será purificado, da utilização final desse gás, do funcionamento da biodigestão anaeróbia e dos tipos de substratos utilizados para sua produção.

Geralmente, a utilização do biogás em seu estado não purificado não é eficiente em virtude da presença das substâncias contaminantes. Desta forma, o biogás é submetido a vários processos de purificação, tornando possível sua utilização de forma adequada.

2.2.1 Purificação de biogás

Como a presença de contaminantes no biogás prejudica o processo de combustão e diminui a eficiência do uso deste biocombustível, a purificação apresenta-se como uma importante melhoria desta tecnologia. Isto significa

que todos os gases, com exceção do metano (CH₄), devem ser removidos (METCALF e EDDY, 1972).

Estas substâncias misturam-se com o combustível diminuindo a quantidade de energia gerada por volume de gás utilizado. Uma vez purificado, o biogás obtido do processo de biodigestão é composto, principalmente, por metano (CH₄), gás inodoro e inflamável que é mais leve que o ar (IEA, 2000).

Para se atingir um biogás livre de impurezas, são utilizadas diversas técnicas de purificação como as que serão apresentadas a seguir. A TABELA 01 resume os parâmetros mais importantes das tecnologias de purificação do biogás listadas na literatura.

TABELA 01 – DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DOS MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS

Métodos	Vantagens	Desvantagens	% (v/v) final de metano	Referências
Purificação por membrana	Segurança e simplicidade de operação; não geração de produtos químicos perigosos;	Resíduos de saída ainda contêm concentrações de CH ₄ que é altamente poluente;	90-96	IEA, 2000; HARASIMOWICZ <i>et al.</i> , (2007); CHMIELEWSKI, (2013);
Lavagem de Gás	Operam com baixas vazões de biogás; exige menos infraestrutura; simples e mais econômicos;	O efluente líquido necessita de pós-tratamento; Descarte de emissões poluentes na atmosfera;	95 - 100	BHATTACHARYA <i>et al.</i> , (1988); KHAPRE, (1989)
Purificação criogênica	Economicamente viável quando o processo envolve grandes quantidades de biogás;	Exigência de vários equipamentos e dispositivos, como: turbinas, compressores e colunas de destilação;	97	De HULLU <i>et al.</i> , (2008);
Purificação por adsorção	Simple e de fácil operação; Boa capacidade de retenção de umidade;	Necessidade de alta temperatura e pressão que torna o processo mais caro;	97	De HULLU <i>et al.</i> , (2008); KAPDI <i>et al.</i> , (2005).
Purificação Biológica	Produção de biomassa no processo de fixação de CO ₂ por meio da fotossíntese agregando valor ao processo;	Métodos recentes que ainda necessitam de estudos;	87-97	KAO <i>et al.</i> , (2012); MANN <i>et al.</i> , (2009);

FONTE: O autor (2013).

2.2.1.1 Purificação por membrana

Um dos processos mais utilizados para purificação do biogás consiste na utilização de membranas. No passado recente as membranas de permeação de gases foram frequentemente aplicadas no tratamento de gás natural (BAKER e LOKHANDWALA 2008; HARASIMOWICZ *et al.*, 2007). Uma vez que o biogás é constituído por gases semelhantes ao gás natural, tornou-se possível a utilização desta técnica para a purificação do biogás (QIU *et al.*, 1989).

Dentre as vantagens mais importantes desta técnica destacam-se a segurança e simplicidade de operação, a facilidade de manutenção e a não geração de produtos químicos perigosos. Basicamente a purificação de biogás com membranas ocorre devido à diferença do tamanho das partículas, sendo a diferença de pressão parcial entre os gases a força motriz por trás deste processo. Assim, o processo de purificação por membranas acontece pela separação do metano e demais componentes do gás, com base nas diferentes velocidades de difusão que as moléculas do biogás apresentam em função do seu tamanho. A molécula de metano é menor que as demais, e se difunde mais rapidamente pela maioria das membranas quando comparada ao dióxido de carbono (SPILLMAN, 1989).

O potencial de utilização de membranas para produção de biogás purificado foi notado há mais de trinta anos atrás. Schell e Houston (1983) relataram o processo para tratamento de biogás por membranas de acetato de celulose em espiral. Os testes de permeação foram realizados durante 18 meses e a planta foi capaz de processar aproximadamente $60 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ de biogás bruto.

Mais recentemente, Harasimowicz *et al.* (2007) alcançaram concentrações de 91 - 94,4% (v/v) de metano no biogás utilizando membranas de poliamida em escala laboratorial.

Chmielewski *et al.* (2013) realizaram testes de purificação de biogás produzido pela biodigestão de silagem de milho e silagem de capim. A concentração de metano no biogás bruto foi de 70 % (v/v) e após o tratamento por membranas o material apresentou concentração de 90% (v/v) de metano.

Contudo, neste processo não é descrito a utilização posterior do dióxido de carbono. Uma desvantagem desta técnica é a presença de resíduos finais com concentrações de CH_4 . Parte disso pode ser alimentado novamente para o sistema ou ser queimado em motores e geradores. A FIGURA 02 apresenta o interior de uma planta de purificação de biogás por membranas.



FIGURA 02 – INTERIOR DE UMA PLANTA DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS POR MEMBRANAS.

FONTE: MAKARUK *et al.*, 2010.

2.2.1.2. Lavagem de Gás

A purificação de biogás através do método de absorção físico/química pode ser aplicada de forma eficaz mesmo em unidades que operam com baixas vazões de biogás. O método é menos complicado e exige menos infraestrutura. Um dos métodos mais simples e mais econômicos envolve a utilização de água pressurizada como um absorvente. O biogás bruto é comprimido e alimentado em uma coluna de leito fixo e a água pressurizada é pulverizada contracorrente a partir do topo. Desta forma, o CO_2 e o H_2S dissolvem-se na água e são descartados posteriormente. A água pode ser reciclada através de uma torre de regeneração (FIGURA 03).

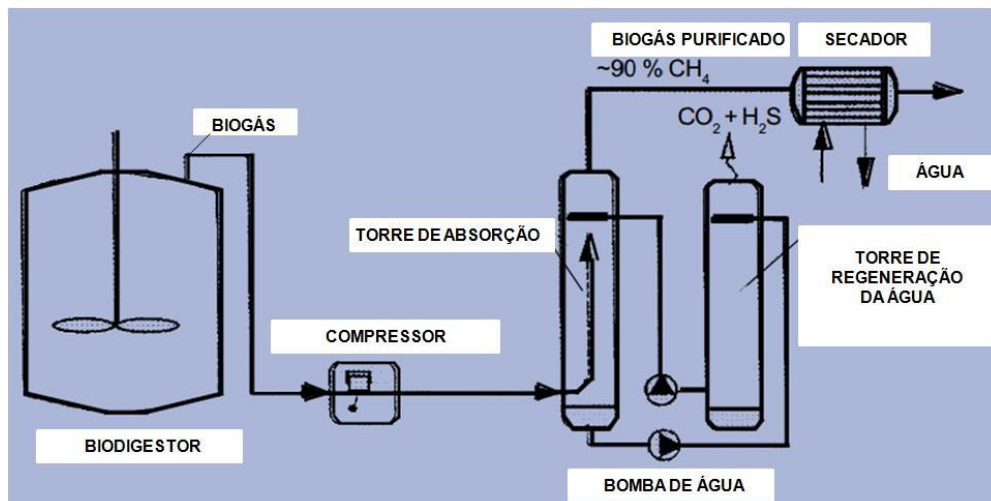


FIGURA 03 – FLUXO ESQUEMÁTICO PARA REMOÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO A PARTIR DO BIOGÁS POR LAVAGEM DE GÁS.

FONTE: adaptado de Petersson e Wellinger (2009).

Bhattacharya *et al.* (1988) desenvolveram um sistema de lavagem de água onde o processo forneceu 100% (v/v) de metano puro. Contudo, o processo se mostrou dependente de fatores como as dimensões da torre de lavagem, da pressão do gás, da composição do biogás bruto, das taxas de fluxo de água e também da pureza da água utilizada.

Em plantas de produção de biogás da Suécia, França e EUA para a remoção de CO_2 do biogás, os resultados demonstram que apenas 5-10% (v/v) de CO_2 permanece no biogás após a lavagem (PETERSSON E WELLINGER, 2009).

Um ponto importante a ser observado neste processo é o descarte na atmosfera do CO_2 presente na água após a purificação.

2.2.1.3. Purificação criogênica

O dióxido de carbono pode ser separado do metano por arrefecimento da mistura do biogás a pressão elevada. Este método tem sido estudado, porém ainda não está disponível como um processo comercial. O biogás bruto é comprimido a cerca de 80 bar e a purificação feita em múltiplos estágios.

Primeiramente, o gás comprimido é seco para evitar o congelamento no processo de refrigeração. Em seguida é resfriado a $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o dióxido de carbono condensado é removido num separador de gases. O dióxido de carbono é processado para recuperar o metano dissolvido, que é reciclado na entrada de gás (HAGEN e POLMAN, 2001).

Por este processo mais de 97% (v/v) de metano puro é obtido. Não estão disponíveis dados de custo de investimento e operação destes sistemas, porém cálculos da literatura indicam que os custos são comparáveis às técnicas de depuração de água em plantas de tamanho médio (DE HULLU *et al.*, 2008).

A principal desvantagem da separação criogênica é a exigência do uso de vários equipamentos e dispositivos, como: turbinas, compressores, permutadores de calor e colunas de destilação. A necessidade de manter estes equipamentos faz desta técnica de separação um processo com altos custos de capital. Por conseguinte, esta técnica torna-se apenas economicamente viável, se a separação de uma grande quantidade de biogás for necessária (DE HULLU *et al.*, 2008).

2.2.1.4. Purificação por adsorção

Atualmente, a tecnologia de purificação por adsorção é amplamente utilizada em todo o mundo. Neste processo de purificação, o dióxido de carbono é removido do biogás por meio da adsorção com diferentes pressões. O sistema consiste de quatro recipientes cheios de material adsorvente. O biogás entra no fundo do reservatório, o material adsorvente fixa o CO_2 e ao final do processo se obtém o biogás purificado com concentrações de 95% (v/v) de CH_4 e eficiência de recuperação de metano no biogás de 85% (v/v) a 90% (v/v), dependendo do material adsorvente (MITARITEN, 2005). Quando o material adsorvente está completamente saturado com dióxido de carbono, o biogás passa para o reservatório seguinte, que foi previamente regenerado pela depressurização até a pressão atmosférica.

A FIGURA 04 mostra como o material de adsorção seleciona as

diferentes moléculas gasosas. Além da capacidade de separar diferentes gases, nesses sistemas diferentes materiais podem ser usados como materiais adsorventes, entretanto, os sólidos granulares com grande área de superfície por unidade de volume são os mais empregados como adsorventes comerciais (Por exemplo: carvão ativado, gel de sílica, alumina e zeólitos). Após a remoção dos contaminantes, a pressão do sistema volta a baixar e assim ocorre a limpeza do material adsorvente (JONSSON e PERSSON, 2003). Esta etapa do processo conduz a um fluxo de saída de resíduos contendo concentrações de impurezas.

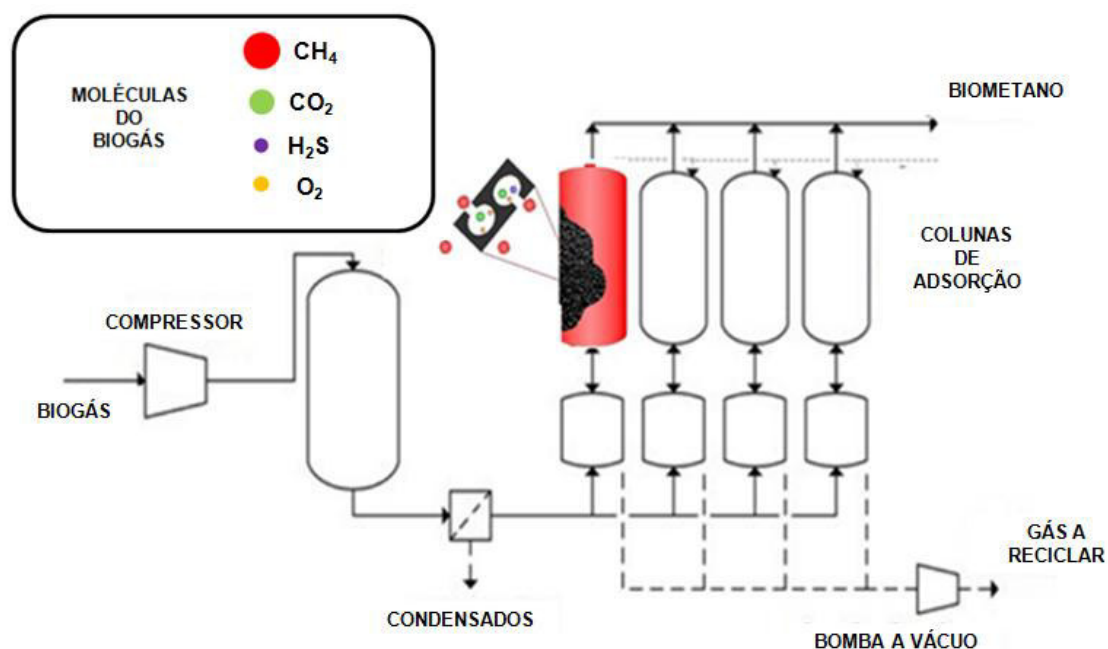


FIGURA 04 - CAPTAÇÃO DE IMPUREZAS DO BIOGÁS PELO PROCESSO ADSORÇÃO
 FONTE: Adaptado de De HULLU *et al.* (2008)

Sistemas de adsorção são simples e de fácil operação. Embora os adsorventes tenham boa capacidade de retenção de umidade, a necessidade de alta temperatura e pressão os tornam mais caros para os processos de purificação de biogás (KAPDI *et al.*, 2005).

As vantagens do processo de purificação por adsorção são o alto enriquecimento do biogás com mais de 95% (v/v) de CH₄, a demanda de baixa potência e o baixo nível de emissões. A principal desvantagem é a etapa de remoção final de impurezas, sendo o passo mais complexo do processo. É importante lembrar que para escolher a melhor tecnologia para purificar o

biogás, os parâmetros específicos de cada planta devem ser considerados. Também deve notar-se que muitas vezes, é possível reduzir a perda de metano, porém com maior consumo de energia.

2.2.1.5. Purificação biológica de dióxido de carbono

Dentre as alternativas para a mitigação de CO₂ existentes, a fixação biológica tem atraído muita atenção, pois leva à produção de biomassa no processo de fixação de CO₂ por meio da fotossíntese (KONDILI e KALDELLIS, 2007). A fixação biológica de CO₂ pode ser efetuada por plantas e microrganismos fotossintéticos como as microalgas.

Uma parte considerável do carbono presente na Terra é encontrada na forma inorgânica e encontra-se na forma de dióxido de carbono (CO₂). As microalgas apresentam cerca de 50% de carbono na sua constituição celular, e grande parte deste carbono é proveniente do ar (MATA *et al.*, 2010).

Para a produção de 100 toneladas de biomassa de microalgas são fixados cerca de 183 toneladas de dióxido de carbono (CHISTI, 2007). A conversão do carbono inorgânico em compostos orgânicos é realizada pelo processo de fotossíntese, dividida em duas fases. Uma fase luminosa (dependente da luz) e outra fase escura (independente da luz), e cuja essência está representada na FIGURA 05.

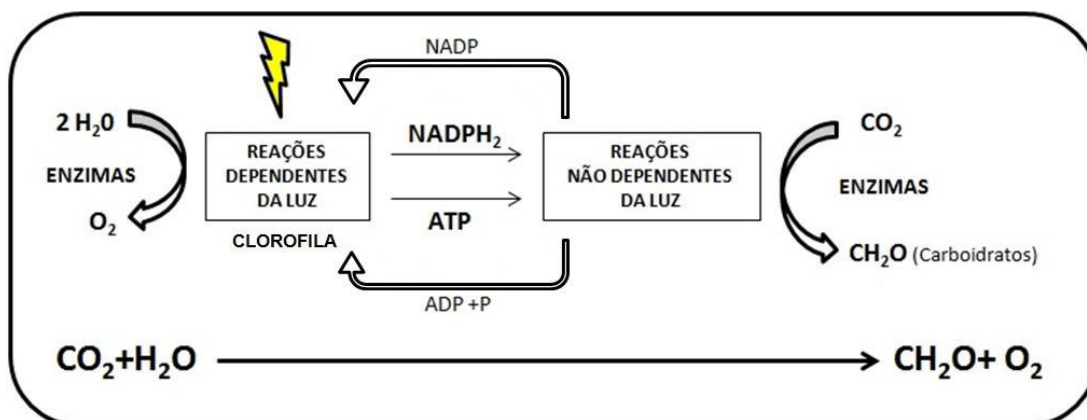


FIGURA 05 – ESQUEMA SIMPLIFICADO DO PROCESSO DE FOTOSSÍNTESE.
 FONTE: adaptado Taiz e Zeiger, 2004.

Na fotossíntese, a célula utiliza a energia do sol para oxidar a água e, assim, produzir oxigênio e reduzir o CO₂, produzindo compostos orgânicos, principalmente açúcares. Quando as moléculas de clorofila são atingidas pela luz ocorre a fotólise da água, ou seja, a quebra da molécula da água na presença da luz. Este fluxo libera energia em forma de íons H⁺, que são utilizados na formação de moléculas NADPH e moléculas de ATP. Essas moléculas formadas na primeira fase da fotossíntese são utilizadas na etapa química (não dependente de luz). Na fase química o CO₂ reage com o NADPH, formando a molécula de glicose (RICHMOND, 2008).

A fotossíntese possibilita a conversão da luz em energia química, conduzindo à produção e matérias-primas requeridas para a síntese de diversos combustíveis: biohidrogênio, bioetanol, biodiesel e biometano.

Uma vez que a partir da fotossíntese átomos de carbono são incorporados a estrutura molecular das microalgas na forma de carboidratos e lipídeos, a fixação biológica de CO₂ por microalgas se torna uma alternativa sustentável (TAKAGI *et al.*, 2006). As vantagens desse processo estão relacionadas à maior eficiência fotossintética dos sistemas quando comparados às plantas superiores, à resistência de alguns destes microrganismos a elevadas concentrações de dióxido de carbono e à possibilidade do controle das condições de crescimento das culturas.

Em comparação aos procedimentos de purificação de biogás implantados atualmente, a aplicação de microalgas surge como uma alternativa de menor custo (CONDE *et al.*, 1993). Além disso, a utilização de microalgas permite a produção de produtos comercializáveis, tais como proteínas e produtos nutracêuticos (SPOLAORE *et al.*, 2006; PULZ e GROSS, 2004).

São encontrados poucos trabalhos relacionados à utilização de microalgas para purificação de biogás em grande escala. A patente internacional CN102392052 (A) — 2012 descreve um fotobiorreator cilíndrico para purificação de biogás através da injeção de gás na cultura autotrófica de microalgas utilizando luz artificial. A vazão de fluxo de biogás foi de 100-500 mL.min⁻¹. Na presente invenção foram alcançadas concentrações de 80-85% (v/v) de metano no gás de saída.

No documento da patente brasileira PI 0703245-5 A2 (2009), é descrito

um processo de purificação de biogás utilizando microalgas. Conforme o documento, níveis de até 100% de metano podem ser alcançados pelo processo. Entretanto, o tipo de sistema utilizado e os detalhes do processo não são revelados no documento.

Kao *et al.* (2012) testaram a microalga *Chlorella* em cultivos em meio sintético com adição de 20% de CO₂ e 80% de metano. Neste estudo a microalga atingiu 1,2 g.L⁻¹ de biomassa seca e a concentração de metano no biogás aumentou de 80% para 87% (v/v).

Converti *et al.* (2009) utilizando a microalga *Spirulina platensis* obtiveram um aumento de cerca de 15% na produtividade de biomassa com a utilização de biogás como fonte de carbono. A eficiência de fixação de carbono das microalgas para a produção de biomassa foi de quase 95%.

Considerando todos os processos de purificação de biogás descritos anteriormente, percebe-se que os avanços tecnológicos têm levado a construção de plantas mais eficientes graças ao crescente interesse na modernização da produção e utilização do biogás. Os custos de modernização das técnicas estabelecidas são dependentes das tecnologias utilizadas. Desta maneira, o desenvolvimento de novas tecnologias mais eficientes e com custos mais acessíveis são esperados.

2.3. BIODIESEL

A exigência de energia esperada no mundo para 2030 deve ser 50% maior do que é hoje. Apenas o setor de transporte corresponde por 30% do consumo total de energia do mundo, devido principalmente ao aumento acentuado no número de veículos de transporte em todo o mundo (ATABANI, *et al.*, 2012)

A combustão do diesel e da gasolina derivada de petróleo bruto em veículos de ignição emitem na atmosfera altas concentrações de dióxido de carbono, juntamente com material particulado, monóxido de carbono, óxidos de nitrogênio e outras substâncias cancerígenas que representam perigos diretos

e indiretos para humanidade e os ecossistemas. A preocupação em relação ao aumento do dióxido de carbono e outros poluentes na atmosfera, bem como a diminuição das reservas de petróleo bruto, são as principais motivações ao desenvolvimento de combustíveis renováveis.

Apesar das diferenças de opinião sobre a quantidade de petróleo bruto disponível atualmente, o seu esgotamento parece inevitável. Uma fonte de energia renovável que tem recebido atenção mundial devido à sua compatibilidade como combustível em motores de ignição é o biodiesel.

Segundo a Lei Federal Nº. 11.097 de 13 de janeiro de 2005 o biodiesel é definido 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.*

No Brasil, este biocombustível deve atender à especificação estabelecida pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), em sua Resolução ANP nº 07/2008, 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”.*

O biodiesel é produzido a partir de uma ampla variedade de matérias-primas oleaginosas que apresentam triacilgliceróis como componente de sua estrutura. Devido a sua renovabilidade, a produção de biodiesel tem aumentado gradualmente nos últimos anos.

O largo espectro de matérias-primas que podem ser utilizados para sintetizar o biodiesel são os óleos comestíveis, óleos não comestíveis, óleos de cozinha, resíduos de óleos de fritura de resíduos de origem animal, ou de óleo de resíduos de peixe e óleo de microalgas (dos REIS ALBUQUERQUE *et al.*, 2012; KERSCHBAUM *et al.*, 2008). Em 2007, aproximadamente 7 % dos óleos vegetais comestíveis no planeta foram encaminhados para a fabricação de biodiesel (BALAT, 2011).

Dentre as plantas que apresentam óleos comestíveis usados na síntese de biodiesel podem ser citadas a soja, colza, palma e girassol (RAMOS *et al.*, 2009). No entanto, com a diminuição da disponibilidade de terras cultiváveis e a

preocupação mundial sobre a questão alimentar, não parece justificável desviar o óleo comestível para a produção de biocombustíveis. A disponibilidade limitada do óleo comestível em muitos países em desenvolvimento e subdesenvolvidos representa um ponto de interrogação para a continuação da produção de biodiesel a partir de óleos comestíveis.

A utilização do óleo de microalgas como matéria-prima para produção de biodiesel está num estágio preliminar de pesquisa. Contudo, tem mostrado grande potencial como alternativa para uma nova geração de matérias-primas. A produtividade lipídica das microalgas em relação ao peso seco da biomassa pode ser de 15 a 300 vezes maior do que de plantas terrestres (XIN *et al.*, 2010). No entanto, a sua cultura e extração de óleo, juntamente com a otimização dos parâmetros importantes (luz, pH, temperatura, nutrientes) para um elevado rendimento de óleo com baixo custo é com certeza um grande desafio.

2.3.1. Biodiesel de microalgas

Com o aumento dos preços dos combustíveis fósseis e as preocupações ambientais ganhando destaque, o desenvolvimento de combustíveis alternativos a partir de biomassa tornou-se um passo importante para o desenvolvimento sustentável do planeta.

Os biocombustíveis, como o biodiesel da soja e o etanol têm sido propostos como possíveis combustíveis alternativos. Métodos atuais de produção de biocombustíveis competem com as culturas de alimentos, pois requerem quantidades crescentes de terra arável e fértil, aumentando a preocupação com a acessibilidade de alimentos. Neste sentido, as microalgas oferecem uma alternativa única, pois não competem com a produção de alimentos agrícolas se mostrando uma alternativa atraente para a produção de biodiesel (DEMIRBAS, 2011).

Quatro estágios principais estão envolvidos no processo de produção de biodiesel de microalgas que incluem o cultivo das microalgas, a separação e secagem da biomassa, a extração do óleo e a produção do biodiesel. Cada

uma das fases requer certa quantidade de energia, que por vezes aumenta o custo da produção.

As microalgas se reproduzem pela fotossíntese convertendo energia solar em energia química. Devido a fácil adaptação desses organismos a diferentes condições ambientais é possível encontrar espécies em quase qualquer lugar do globo terrestre, o que não é possível fazer com outras matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel como, por exemplo, a soja, o girassol e óleo de palma.

Ao observar a TABELA 02, percebe-se que as microalgas se mostram como uma importante fonte de biodiesel com potencial para competir com o diesel fóssil. Ao contrário de outras oleaginosas, as microalgas crescem rapidamente e são extremamente ricas em óleo.

TABELA 02 – RENDIMENTO ANUAL DE DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Fonte	% de óleo na biomassa seca	Rendimento de óleo (L.ha ⁻¹ .ano ⁻¹)	Área utilizada (m ² .kg biodiesel ⁻¹ .ano ⁻¹)	Produtividade de biodiesel (kg biodiesel.ha ⁻¹ .ano ⁻¹)
Milho	44	172	66	152
Cânhamo	33	363	31	321
Canola	41	974	12	862
Girassol	40	1070	11	946
Palma	36	5366	2,0	4747
Microalga ^a	30	58.700	0,2	52.000
Microalga ^b	50	97.800	0,1	86.000
Microalga ^c	70	136.900	0,1	121.000

FONTE: Adaptado de Mata *et al.* (2010).

A cultura de microalgas pode ser vista como uma alternativa para a produção de ácidos graxos poliinsaturados, esses cultivos também apresentam uma série de vantagens quando comparados com fontes convencionais (MEDINA *et al.*, 1998). Também é de suma importância a composição dos ácidos graxos presentes nas diferentes espécies de microalgas, pois eles apresentam um efeito significativo sobre as características do biodiesel produzido.

Microalgas comumente podem dobrar sua biomassa em curto espaço de tempo e níveis de óleo entre 20-50% são bastante comuns conforme a TABELA 03 (METTING, 1996; SPOLAORE *et al.*, 2006).

TABELA 03 – NÍVEIS DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES ESPÉCIES DE MICROALGAS

Espécie	Conteúdo Lipídico (% peso seco da biomassa)	Produtividade de lipídeos (mg.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	Produtividade de biomassa (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0 – 58,0	11,2 – 40,0	0,02 – 0,20
<i>Dunaliella salina</i>	6,0 – 25,0	116,0	0,22 – 0,34
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25,0	–	0,05 – 0,06
<i>Isochrysis galbana</i>	7,0 – 40,0	–	0,32 – 1,60
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22,7 – 29,7	84,0 – 142,0	0,37 – 0,48
<i>Pavlova lutheri</i>	35,5	40,2	0,14
<i>Scenedesmus sp.</i>	13,3 – 31,8	27,3	0,09
<i>Spirulina maxima</i>	4,0–9,0	–	0,21 – 0,25
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20,6	17,4	0,08
<i>Tetraselmis sp.</i>	12,6 – 14,7	43,4	0,30

Fonte: Adaptado de Mata *et al.*, (2010).

Fatores como luz, temperatura, concentração da fonte de nitrogênio e concentração de dióxido de carbono influenciam diretamente no conteúdo e na composição dos lipídios e ácidos graxos em microalgas. Illman *et al.* (2000) mostraram que a privação de fontes de nitrogênio influenciaram o cultivo de *Chlorella*, aumentando seu conteúdo lipídico em 63%.

O estudo dos efeitos da adição de CO₂, no crescimento e metabolismo de microalgas é estimulado pela necessidade de redução da emissão desse gás na atmosfera. A biofixação de CO₂ por cultivos de microalgas vêm sendo estudadas desde que foi comprovada a adaptação desses organismos a altas concentrações desse gás e de sua utilização no processo de fotossíntese. A produção de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) da microalga *Pavlova lutheri* foi otimizada combinando a intensidade da luz e a concentração de CO₂ (CARVALHO E MALCATA, 2005).

Apesar de ser uma atividade dominada em países desenvolvidos, a produção e comércio de microalgas no Brasil tem sido realizada por empresas

que produzem a biomassa e a empregam principalmente na alimentação de organismos como camarões e moluscos marinhos.

2.4. MICROALGAS

As microalgas são reconhecidas como uma das formas mais antigas de vida do planeta Terra (SONG *et al.*, 2008). Elas consistem uma ampla gama de organismos autotróficos que crescem pela fotossíntese igualmente as plantas terrestres, sendo consideradas responsáveis por pelo menos 60% da produção de oxigênio presente na biosfera. Sua estrutura unicelular lhes permite facilmente converter a energia solar em energia química (RICHMOND, 2008). O crescimento das microalgas se dá a um ritmo acelerado chegando a ser 100 vezes mais rápido do que as plantas terrestres e podendo dobrar sua biomassa em menos de um dia (TREDICI, 2010).

Presentes em praticamente todos os ecossistemas existentes na terra, as microalgas representam uma grande variedade de espécies vivas em diferentes condições ambientais. A quantidade de espécies existentes não é conhecida exatamente, contudo, são encontrados relatos da existência de 200.000 até alguns milhões de representantes. Essa grande diversidade caracteriza as microalgas como fonte ilimitada de bioprodutos (NORTON *et al.*, 1996; PULZ e GROSS, 2004). Mesmo assim, apenas um número limitado já foi estudado até os dias de hoje (RICHMOND, 2008).

Durante os últimos 40 anos, a pesquisa relacionada às microalgas se desenvolveu rapidamente. Pesquisas na Alemanha foram estendidas aos Estados Unidos, Japão, Israel e Itália (BURLEW, 1953). Na década de 50 a ideia de utilizar microalgas para tratamento de águas residuais começou a ser explorada, e em 1960 a atenção foi voltada para o desenvolvimento de alimentos para astronautas, assim a produção comercial de *Chlorella* como um novo alimento no Japão e Taiwan foi um sucesso (SOONG, 1980). Em 1970, a produção de biomassa de microalgas começou a ser estudada como fonte de

combustível e fertilizante. Já em 1980, uma nova tendência foi a utilização de microalgas como fonte de produtos químicos.

Desde 1940 as microalgas vêm desempenhando um papel de crescente importância na aquicultura. Uma característica importante dos sistemas de produção de microalgas é a sua versatilidade, o que torna possível integrar diversas aplicações dentro de um mesmo processo, como por exemplo, o tratamento de águas residuais e a produção de rações e produtos químicos.

Pesquisas com microalgas tem sido desenvolvidas para diferentes aplicações comerciais. Como organismos fotossintéticos, as microalgas contêm clorofila que pode ser usada para fins alimentares e cosméticos (SPOLAORE *et al.*, 2006). Elas também podem ser usadas nas indústrias farmacêuticas, como algumas espécies de microalgas que produzem compostos bioativos, tais como antioxidantes e antibióticos (GARCIA-CASAL *et al.*, 2009). Além disso, as microalgas são usadas como suplementos nutricionais para o consumo humano, devido à presença de proteínas, vitaminas e polissacarídeos em sua biomassa (CARBALLO-CÁRDENAS *et al.*, 2003). O resíduo da biomassa pode ser convertido em diferentes tipos de biocombustíveis, como biometano (VERGARA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2008), bioetanol (TSUKAHARA e SAWAYAMA, 2005), e biohidrogênio (HANKAMER, 2007).

Algumas espécies de microalgas contêm altos níveis de lipídios que podem ser extraídos e convertidos em biodiesel (CHISTI, 2007). De acordo com um estudo recente da literatura, um valor real de produção de biomassa de microalgas se situa entre 15 e 25 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹. Com uma premissa de 30% de teor de lipídios nas células de microalgas, a produção de lipídios pode chegar a 4,5-7,5 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹ (TSUKAHARA e SAWAYAMA, 2005). Este valor é superior a produção de óleo de soja (0,4 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹), canola (0,68 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹), óleo de palma (3,62 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹) e pinhão manso (4,14 toneladas.ha⁻¹.ano⁻¹) (CHISTI, 2007; LAM e LEE, 2011).

A elevada taxa de crescimento das microalgas torna possível satisfazer a enorme demanda em biocombustíveis, usando espaços de terra que não competem com áreas agriculturáveis e consumindo menos água do que em cultivos convencionais de plantas oleaginosas. Além disso, as microalgas tem maior tolerância para concentrações altas de dióxido de carbono, permitindo maior eficiência na mitigação deste gás (SUNG *et al.*, 1999). Contudo, apesar

dos grandes esforços dedicados à otimização dos processos de cultivo de microalgas, o desenvolvimento com baixo custo e alta eficiência ainda é esperado principalmente quando se trata do custo de produção.

Dentre as espécies de microalgas mais conhecidas no mundo podem ser citadas: *Chlorella* sp. e *Spirulina* utilizadas como nutracêuticos; *Dunaliella salina* como fonte de caroteno; *Haematococcus pluvialis* para produção comercial de astaxantina e *Scenedesmus* sp. para tratamento de efluentes e biorremediação (AZEREDO, 2012).

2.4.1. *Scenedesmus* sp.

A microalga *Scenedesmus* sp. encontrada em praticamente todos os tipos de água doce é amplamente utilizada na biotecnologia na produção de biomassa e na biorremediação de efluentes. Esta espécie tem demonstrado extraordinária vitalidade nas águas residuais urbanas, registrando taxas de crescimento semelhantes às relatadas por meio sintético completo. Tolerância a diferentes níveis de temperatura e de pH, tornando-se versátil para a purificação de águas residuais (KESSLER, 1991). Entre as microalgas, esta espécie apresenta diversas características desejáveis para a combinação eficiente e econômica da fixação de CO₂, tratamento de efluentes e síntese de lipídeos para a produção de biocombustíveis (TANG *et al.*, 2011).

2.4.2. *Spirulina*

Espécies de *Spirulina* têm sido amplamente utilizadas na suplementação alimentar humana e animal, assim como na obtenção de compostos utilizados em formas farmacêuticas. A microalga é rica em proteínas, vitaminas, aminoácidos essenciais, minerais, ácidos graxos poliinsaturados e outros nutrientes. Ela cresce em água com níveis alcalinos de pH, e pode ser facilmente recolhida e processada. Esta espécie ganhou popularidade

significativa na indústria de alimentos em muitos países da Ásia e África, sendo utilizada como suplemento alimentar (VONSHAK, 1997; CIFERRE, 1983).

Uma das principais barreiras para a produção de *Spirulina* é o custo e disponibilidade dos nutrientes. Contudo, existe a alternativa de usar fontes de nutrientes orgânicos, especialmente a partir de efluentes (VONSHAK, 1997).

2.4.3. *Chlorella* sp.

A microalga *Chlorella* é um organismo unicelular, esférico com 2,0 - 10,0 µm de diâmetro. Esta microalga é encontrada tanto em água doce quanto em ambiente salino. Elas são geralmente encontradas em águas de lagoas e lagos, em solo úmido ou outras situações úmidas, como a superfície de troncos de árvores, potes de água e paredes úmidas (CHAPMAN; CHAPMAN, 1973). As aplicações desta espécie vão desde a alimentação humana para aplicações em viagens espaciais até a geração de bioenergia. Illman *et al.* (2000) estudaram a composição de cepas de *Chlorella* sp. cultivadas em meio com baixa concentração de nitrogênio e concluiu que esta espécie pode ser utilizada como fonte de matéria-prima para produção de biodiesel. Xu *et al.* (2006) também obtiveram sucesso na produção de biodiesel a partir de cultivos de *Chlorella* sp.

2.4.4. *Dunaliella salina*

Dunaliella salina é uma microalga marinha verde fonte natural de antioxidantes β - caroteno e luteína, e que tem sido utilizada como suplemento de saúde (DUFOSSE *et al.*, 2005; LAMERS *et al.*, 2008; RAJA *et al.*, 2007). Em condições ambientais extremas, com a limitação de nutrientes, baixas temperatura, aumento da intensidade de luz ou altas concentrações de sal, essa espécie apresenta alterações morfológicas e bioquímicas concomitantes com suas estratégias de sobrevivência (GÓMEZ e GONZÁLEZ, 2005).

2.4.5. *Haematococcus pluvialis*

Haematococcus pluvialis é uma microalga verde unicelular biflagelada que sob condições de estresse acumulam astaxantina e lipídeos em grandes concentrações (GRUNEWALD *et al.*, 2001; DAMIANI *et al.*, 2006). A capacidade desta microalga de sobreviver em uma ampla gama de condições ambientais, juntamente com a sua capacidade de modificar de maneira eficaz o seu metabolismo lipídico em resposta a diferentes condições de stress, a torna um organismo interessante quando o foco é a produção de biomassa. Diversos estudos sobre a produção de ácidos graxos e de astaxantina a partir de *H. pluvialis* já foram realizadas (YUAN e CHEN, 2000; ZHEKISHEVA *et al.*, 2002). As células vegetativas crescem de maneira ótima sob baixa irradiação.

2.4.6. Meios de cultivos

Os principais grupos de nutrientes considerados essenciais para o crescimento das microalgas são: os macronutrientes (Oxigênio, Nitrogênio, Hidrogênio, Fósforo, Cálcio, Magnésio, Potássio e Enxofre) e os micronutrientes (Ferro, Boro, Cobre, Cobalto, Zinco, Vanádio, Molibdênio e Sódio) (LOURENÇO, 2006).

A concentração dos nutrientes pode alterar diretamente o crescimento dos organismos e modificar sua composição bioquímica, como por exemplo, num meio de cultivo que apresenta limitação na concentração de nitrogênio o conteúdo de lipídeos pode dobrar (WIDJAJA *et al.*, 2009). Por outro lado, a escassez ou ausência de fontes de nitrogênio reflete negativamente na densidade celular obtida (HUANG *et al.*, 2010). Desta forma, o crescimento ideal das microalgas em meio de cultura é diretamente dependente do balanço de nutrientes.

Um dos grandes desafios no cultivo de microalgas em grande escala é o custo dos reagentes químicos necessários para a formulação dos meios de

cultivo. Assim, meios alternativos de baixo custo se apresentam como uma saída para produção de microalgas (HARDY e CASTRO, 2000; ADAMSSON, 2000).

2.4.7. Meios de cultivos alternativos

A utilização de efluentes como meio de cultura alternativo pode reduzir consideravelmente os custos operacionais da produção de microalgas. Para isso, deve-se explorar o cultivo de espécies de microalgas adaptadas às condições de qualidade de água encontradas em efluentes. As microalgas necessitam de compostos orgânicos o que favorece o tratamento de águas residuais e redução dos compostos como nitrogênio e fósforo presentes em altas concentrações nos efluentes (TABELA 04).

Por outro lado, o efeito poluidor provocado pelo descarte inadequado de efluentes no meio ambiente tornou o gerenciamento ambiental uma questão fundamental para diversos segmentos de nossa sociedade como frigoríficos, curtumes, estações de tratamento de esgoto e indústrias (NAGEL, 2002).

TABELA 04 - CONCENTRAÇÕES DE NUTRIENTES PRESENTES NOS EFLUENTES SUÍNO, BOVINO E ESGOTO SANITÁRIO APÓS O TRATAMENTO POR BIODIGESTÃO ANAERÓBIA.

NUTRIENTES	DEJETO SUÍNO (g.L ⁻¹)	DEJETO BOVINO (g.L ⁻¹)	ESGOTO SANITÁRIO (g.L ⁻¹)
Nitrogênio amoniacal	0,92	0,2	0,43
Nitrogênio total	1,15	0,26	0,11
Fósforo total	0,34	0,47	0,11

FONTE: Adaptado de Kebede-westhead, Pizarro e Mulbry (2006); Oliveira (2013), Silva, (2013).

Percebe-se a concentração de nutrientes no efluente mesmo após o tratamento por biodigestão, indicando a necessidade de pós-tratamento desse material.

De acordo com a Resolução 430 de 2011 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), fica estabelecido padrões mais rígidos para o lançamento de efluentes no meio ambiente e a tendência é de existir um maior

controle sobre esses poluentes.

Diante deste cenário, a utilização de efluentes como meio de cultivo para produção de microalgas se apresenta como uma alternativa ao tratamento desses passivos ambientais, ao mesmo tempo fornecendo nutrientes necessários para o crescimento das microalgas.

Dentre os diversos gêneros de microalgas utilizadas no tratamento de efluentes, *Chlorella* e *Scenedesmus* são as mais estudadas (BONINI, 2013).

Segundo Aslan e Kapdan (2006) a microalga *Chlorella vulgaris* apresentou eficiência de 72% na redução de nitrogênio e 28% para fósforo de efluentes agroindustriais.

Oliveira (2013) utilizando efluente bovino biodigerido como meio de cultivo para produção da microalga *Scenedesmus* verificou reduções de 52% na concentração de fósforo e 100% de nitrogênio amoniacal.

Taher (2013) produzindo a microalga *Scenedesmus* em efluente suíno biodigerido alcançou redução de 99,6% na concentração de nitrogênio amoniacal e 99,3% na concentração de fósforo.

Assim sendo, o cultivo de microalgas em efluentes constitui uma possibilidade para o tratamento de efluentes, concomitantemente a produção de biomassa microalgal.

2.5. PRODUÇÃO DE MICROALGAS

As microalgas podem ser cultivadas em diferentes sistemas, tais como tanques abertos e fotobiorreatores fechados. Atualmente, a produção comercial de microalgas é limitada a poucas espécies cultivadas em tanques abertos, localizados ao ar livre e que dependem diretamente da luz solar. Entretanto, as microalgas não podem ser mantidas por muito tempo em sistemas abertos, devido ao risco de contaminação por fungos, bactérias e protozoários e outras microalgas. Nesse contexto, os fotobiorreatores (FBRs) oferecem um ambiente de cultura protegido, relativamente seguro de contaminações, aonde as condições são mais controladas garantindo a predominância das espécies desejadas e a exploração do potencial máximo das microalgas que podem ser

fontes de diferentes compostos de elevado valor (BRENNAN e OWENDE, 2010; TREDICI, 2004).

2.5.1. Sistemas abertos

A maioria dos cultivos de microalgas para fins comerciais são realizados em sistemas abertos, devido principalmente à simplicidade de operação e baixos custos para construção. Diferentes tipos de lagoas foram desenvolvidas para cultivo de microalgas, variando em tamanho, forma, material utilizado para a construção, tipo de agitação e inclinação. Muitas vezes, o projeto de construção é essencialmente ditado pelas condições locais e materiais disponíveis (BECKER, 1994).

Em locais onde a terra e a água têm valores baixos as lagoas são mais rentáveis para se construir e operar. No entanto, as baixas produtividades por unidade de área e volume tornam esses sistemas menos eficientes quando comparados aos sistemas fechados (UGWU *et al.*, 2008).

Em sistemas abertos a profundidade da lagoa está diretamente ligada ao fornecimento de luz adequada para as células realizarem a fotossíntese e a necessidade de manter uma profundidade de água suficiente para o cultivo, evitando grandes mudanças na composição do meio devido à evaporação da água. Desta forma, a maioria das lagoas tem entre 20 e 30 cm de profundidade. Isto reflete na produtividade de tais sistemas, que em quase todos os casos apresentam limitações em relação à iluminação e uma baixa produtividade de biomassa atingindo uma base regular entre aproximadamente 0,1 e 0,5 g.L⁻¹ (VONSHAK, 1997)

As microalgas também apresentam limitação de dióxido de carbono em sistemas abertos devido à pequena área de troca gasosa, e a adição de CO₂ em lagoas abertas é geralmente ineficiente devido a reduzida coluna para troca gasosa dos sistemas (BELAY, 1997).

Outro problema constante em sistemas abertos é a facilidade de contaminação por outros microrganismos que podem competir com o cultivo da

microalga selecionada (MORITA *et al.*, 2000; ACIEN *et al.*, 2003). A possibilidade de contaminação é frequentemente citada como uma limitação grave dos sistemas abertos. A FIGURA 06 ilustra alguns exemplos de produção de microalgas em sistemas abertos.

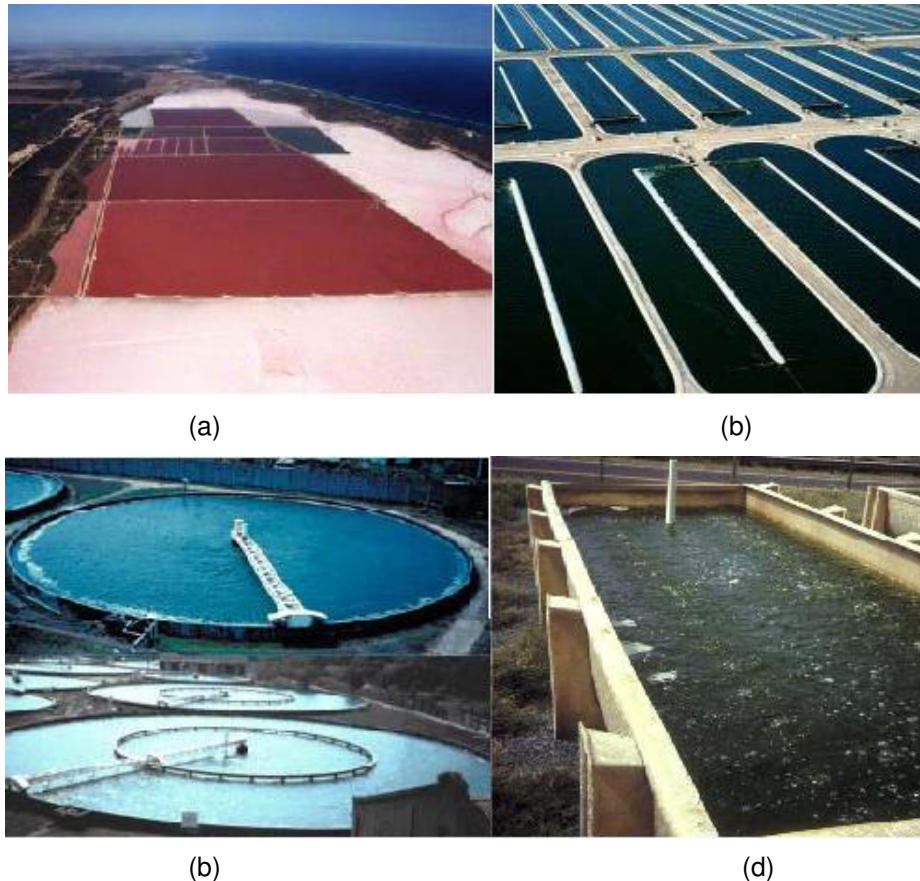


FIGURA 06: PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM SISTEMAS ABERTOS. (a) PRODUÇÃO DE *Dunaliella salina* EM LAGOAS ABERTAS NA AUSTRÁLIA; (b) SISTEMA RACEWAY DE CULTIVO DE *Spirulina* NOS EUA; (c) LAGOA CIRCULAR PARA PRODUÇÃO DE *Chlorella* EM TAIWAN; (d) PRODUÇÃO DE *Nannochloropsis* PARA AQUICULTURA.

FONTE: Borowitzka, 2005; Chisti, 2007.

2.5.2. Sistemas fechados

Fotobiorreatores (FBRs) são sistemas fechados projetados para superar as limitações dos sistemas abertos (RICHMOND, 2004). Embora os fotobiorreatores necessitem de maior investimento na sua construção e operação, diversas vantagens podem ser citadas na utilização desses sistemas como: perdas reduzidas de água por evaporação; maior produtividade e maior

facilidade de colheita da biomassa; maior controle das trocas gasosas; construção em espaços reduzidos; períodos mais curtos de produção; maior rendimento por unidade de área e volume; riscos reduzidos de contaminação, obtenção de biomassa com alto grau de pureza e possibilidade de cultivar uma maior variedade de espécies de algas (CHISTI, 2007; LOURENÇO, 2006).

Os fotobiorreatores podem ser classificados com base na concepção do seu formato e pelo modo de operação. Em termos de desenhos, as principais categorias de reatores são: fotobiorreatores de placa plana, tubulares horizontais e verticais (coluna de bolhas e *airlifts*). Uma classificação operacional de FBRs incluiria a forma de circulação, com ar ou bombas, assim como os materiais de construção que também fornecem uma variação, por exemplo, vidro ou plástico e rígido ou flexível (TREDICI, 2004).

2.5.2.1. Fotobiorreatores de placa plana

Os fotobiorreatores de placa plana consistem em uma caixa transparente retangular com altura e largura que podem variar em certa medida, sendo os mais estudados com altura e largura menores que 1 metro. Estes sistemas são excelentes coletores solares devido à geometria que proporciona uma ótima razão superfície/volume. As culturas em fotobiorreatores planos são misturadas com o ar introduzido por um tubo perfurado no fundo do reator. Para criar elevado grau de turbulência deve ser fornecido de 2,8 - 4,2 litros de ar por litro de cultivo por minuto (HU *et al.*, 1996; HU e RICHMOND, 1996).

Fotobiorreatores de placas planas foram primeiramente descritos por Samson e Leduy (1985), iluminados por lâmpadas fluorescentes de ambos os lados e agitados por aeração. Normalmente, os painéis são iluminados pela luz solar direta e têm a vantagem adicional de que podem ser posicionados na vertical ou inclinados com um ângulo ótimo de frente para a fonte luminosa.

O equipamento representado na FIGURA 07 é um exemplo de fotobiorreator de placa plana. Este sistema foi desenvolvido pela parceria do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável

(NPDEAS) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e o Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). O equipamento encontra-se instalado em uma churrascaria na cidade de Curitiba proporcionando a eliminação do odor produzido no estabelecimento, fixando CO_2 e produzindo biomassa de microalgas.



FIGURA 07: FOTOBIORREATOR DE PLACA PLANA PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS.
FONTE: O autor (2013).

2.5.2.2. Fotobiorreatores Tubulares Horizontais

Fotobiorreatores tubulares são atraentes para a produção em larga escala de microalgas devido à baixa contaminação. Tais sistemas consistem em uma série de tubos transparentes normalmente feitos de plástico ou vidro (FERNANDEZ *et al.*, 2001). A circulação das microalgas pode ser realizada por bombeamento ou através de transporte aéreo. O uso de um dispositivo de transporte aéreo tipo *airlift* oferece algumas vantagens: permite maior eficiência nas trocas gasosas de CO_2 e O_2 entre o meio líquido e o gás de arejamento, os

danos às células quando comparado ao bombeamento mecânico podem ser minimizados, e a circulação é conseguida apenas pela aeração diminuindo o custo energético do sistema.

Richmond (1993) e Molina (1994) relataram esquemas de FBRs com produtividades de $1,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para *Spirulina platensis* e $0,32 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ para *Isochrysis galbana*, respectivamente. Estes sistemas basearam-se em unidades externas, ligadas a uma central de troca de gases utilizando bomba de transporte aéreo conforme as FIGURAS 08 (A) e (B), a pressão de trabalho foi criada de modo a proporcionar pouco estresse, baixo cisalhamento e boa taxa de homogeneização.

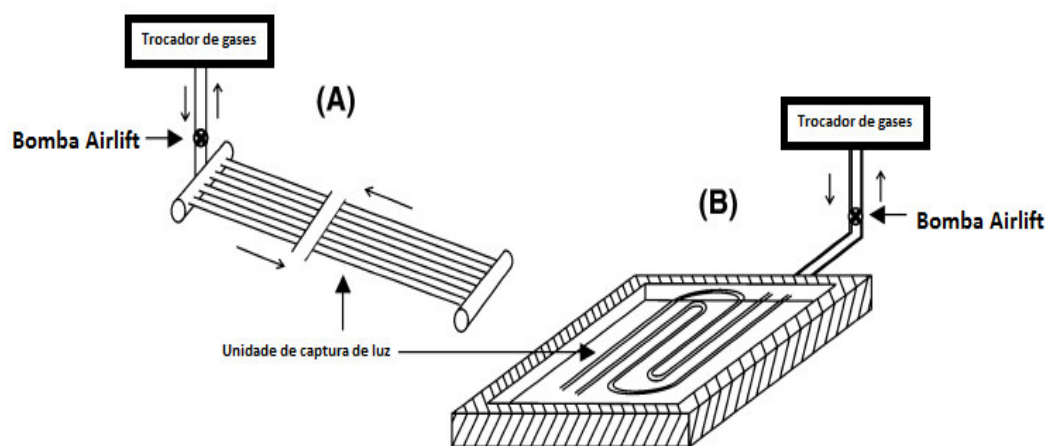


FIGURA 08. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE FOTOBIORREATORIOS TUBULARES HORIZONTAIS, COM UMA UNIDADE DE TROCA DE GASES E UMA UNIDADE DE COLHEITA DE LUZ. (A) COMPOSTO POR TUBOS EM CONJUNTO PARALELO E (B) COMPOSTO POR TUBOS CIRCULARES EM FORMATO SERPENTINA.

FONTE: (RICHMOND, 1993; MOLINA, 1994).

Ambos os sistemas se demonstraram bastante eficientes. O maior inconveniente deste sistema é a área de terra ocupada devido à formatação dos tubos na unidade de captura de luz. Volumes industriais (5.000 - 10.000 L) só podem ser alcançados às custas de um número grande de tubos, e que supostamente devem ser colocados horizontalmente, o que demandaria grandes áreas para construção (MIRÓN *et al.*, 2002).

A FIGURA 09 demonstra algumas configurações de fotobiorreatores tubulares construídos no NPDEAS.

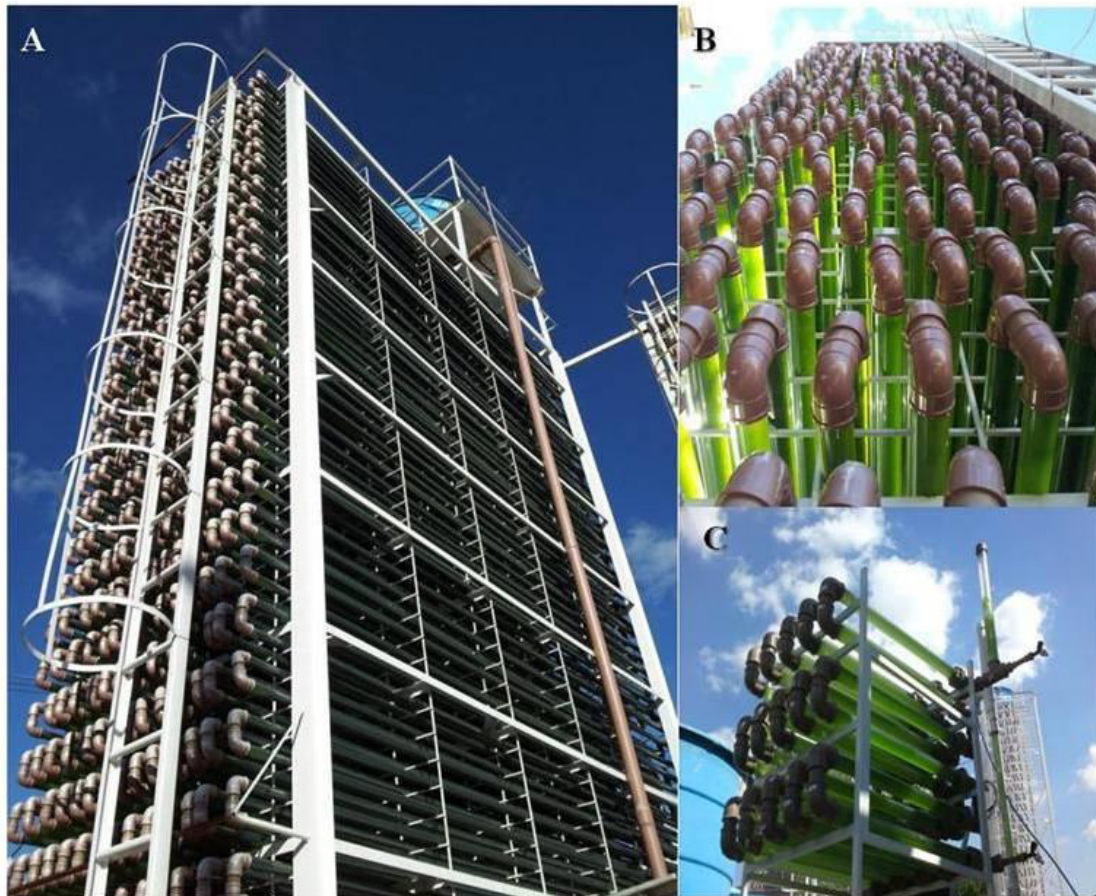


FIGURA 09 – FOTOBIORREADORES TUBULARES COMPACTOS DESENVOLVIDOS PELO NPDEAS-UFPR: (A/B) FOTOBIORREATOR DE 10 m³; (C) PROTÓTIPO FOTOBIORREATOR

FONTE: O autor (2013)

2.5.2.3. Fotobiorreatores Tubulares Verticais

Fotobiorreatores de colunas verticais geralmente são cilíndricos com raios de até 0,2 m e altura de até 4 m. Estas colunas devem ter pequenos raios para aumentar a relação de superfície-volume. A restrição de altura está associada com as limitações de transferência de gás e a resistência dos materiais transparentes utilizados para construir as colunas. Além disso, o aumento do comprimento da coluna aumenta o tempo de residência de O₂ gerado pela fotossíntese, que pode atingir um nível crítico inibindo o crescimento das microalgas. *Airlifts (ARLs)* e coluna de bolhas são exemplos de fotobiorreatores tubulares verticais que têm a vantagem de serem compactos e de baixo custo (MIRÓN *et al.*, 2002).

Os fotobiorreatores de coluna de bolhas são vasos simples em que o gás é injetado geralmente na parte inferior e a mistura aleatória é produzida pelas bolhas ascendentes.

Por outro lado, os fotobiorreatores *airlifts* abrangem uma ampla gama de dispositivos que se caracterizam pela circulação cíclica do fluido, definida por canais construídos especificamente para esta finalidade. Nesses reatores o conteúdo é pneumaticamente agitado pelo fluxo de ar ou por outros gases, nestes casos, os reatores podem receber o nome de “*gaslift*”. Além da agitação, a corrente de gás tem a importante função de facilitar o intercâmbio de material entre a fase gasosa e o meio. Os padrões de circulação de fluidos são determinados pela concepção do reator, que tem um canal de fluxo ascendente e um canal separado para o fluxo descendente. Os dois canais são ligados na parte inferior e na parte superior formando um circuito fechado.

A principal diferença entre *airlifts* e as colunas de bolhas (que também são pneumaticamente agitados) encontra-se no tipo de fluxo de fluido, que depende basicamente da geometria do sistema. Na Figura 10 encontram-se as diferentes configurações desses reatores.

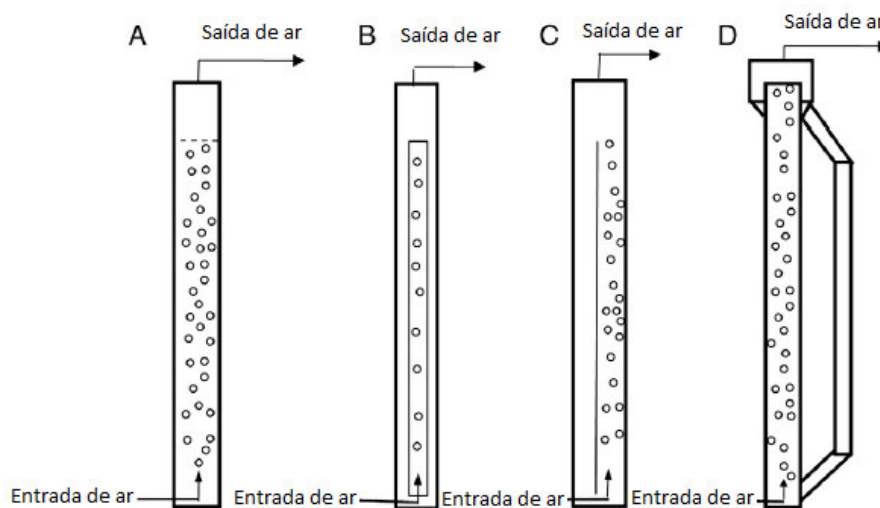


FIGURA 10. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE: (A) COLUNA DE BOLHAS; (B e C), AIRLIFTS DE CIRCULAÇÃO INTERNA; (D) AIRLIFT DE CIRCULAÇÃO EXTERNA.

FONTE: adaptado de Wang *et al.*, (2012).

Os reatores *airlifts* podem ser divididos em dois tipos principais de reatores com base na sua estrutura, reator de circulação externa em que a circulação ocorre através de vasos distintos, e de circulação interna nos quais defletores colocados estrategicamente dentro do vaso criam os canais

necessários para a circulação como mostrado na FIGURA 10. Os modelos de ambos os tipos podem ser modificadas, conduzindo a variações na dinâmica dos fluidos, na extensão da bolha e nas taxas de fluxo das várias fases (MERCHUK e GLUZ, 1999).

Independentemente da configuração básica do reator, todos os modelos de *airlifts* são compostos por quatro seções distintas com diferentes características de fluxo:

- Tubo de subida - O gás é injetado na parte inferior desta seção e os fluxos de gás e líquido são predominantemente ascendentes.

- Tubo de Descida - Esta seção é paralela ao tubo de subida e ligada na parte inferior e superior. Os fluxos de gás e líquido são predominantemente descendentes. A força motriz para a recirculação é a diferença de densidade média entre o tubo de descida e o tubo de subida, o que gera a diferença de pressão necessária para a circulação do fluido.

- Base - Na grande maioria dos projetos de *airlifts*, a zona de ligação entre o tubo de descida e subida é muito simples. Acredita-se geralmente que esta parte não afeta significativamente o comportamento global do reator, mas o design desta seção pode influenciar na velocidade do líquido e no fluxo da fase sólida.

- Separador de gases - Situado na parte superior do reator, esta seção liga o tubo de subida ao tubo de descida, facilitando a recirculação do cultivo e a troca de gás.

Xu *et al.* (2002) mostraram um crescimento superior de microalgas em fotobiorreatores *airlifts* quando comparados aos fotobiorreatores de coluna de bolhas. Em uma baixa taxa de aeração de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, as culturas de *Undaria pinnatifida* e *Porphyridium* sp. cultivadas em reator *airlift* apresentaram um crescimento 33-50% mais elevado do que quando cultivadas em coluna de bolhas.

Em geral, os fotobiorreatores *airlifts* apresentam melhor produção de biomassa de microalgas em comparação a outros fotobiorreatores verticais, provavelmente devido a uma melhor circulação do meio.

A projeção de fotobiorreatores está evoluindo rapidamente para atender a necessidade de produção industrial. A evolução com vista a melhorar a

captura e distribuição de luz, a transferência de massa e de outros aspectos do funcionamento, é esperada para elevar a eficiência global desses sistemas para um novo nível no futuro próximo. Um dos principais desafios de pesquisa parece residir na concepção de um sistema fechado eficaz em produtividade de biomassa que acabará superando o custo de investimento inicial, tornando-se rentável.

2.6. NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE ENERGIA AUTOSSUSTENTÁVEL

O Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS), localizado na Universidade Federal do Paraná, foi implantado em 2008 com o principal objetivo de obter um prédio autossustentável em energia elétrica a partir do biodiesel de microalgas. A principal linha de pesquisa consiste no desenvolvimento de fotobiorreatores tubulares compactos para o cultivo de microalgas. Esses sistemas possuem volume operacional de 12 m³ em uma área de apenas 10 m². Suas dimensões são 8 m de altura, 2 m de largura e 5 m de comprimento. Cada fotobiorreator possui 3,5 km de tubos transparentes. Os fotobiorreatores podem ser observados na FIGURA 09.

Com a criação do NPDEAS surgiu à necessidade de investigar a produção de biomassa de microalgas de forma compacta e eficiente, maximizando a produtividade com o objetivo de produzir biodiesel em grande escala. Atualmente os fotobiorreatores usam apenas o CO₂ presente no ar ambiente como única fonte de carbono. Contudo, existe a possibilidade de acoplá-los a sistemas emissores de CO₂ (caldeiras, geradores, fermentadores, chaminés) de modo a fixar o carbono melhorando a qualidade ambiental das emissões. A FIGURA 11 demonstra um fluxograma das operações realizadas no NPDEAS.

vínculo com as necessidades do setor produtivo. Um exemplo disso são contratos de prestação de serviço estabelecidos entre as empresas Nilko Metalurgia Ltda. e a PSA - Peugeot Citroën do Brasil. Além disso, o grupo teve 07 projetos aprovados no CNPq no período de 2008 até 2013. Neste curto espaço de tempo, o NPDEAS estabeleceu-se como referência no desenvolvimento de fotobiorreatores para produção de biomassa de microalgas.

A TABELA 05 resume as principais produções científicas desenvolvidas pelo NPDEAS de 2008 a 2013.

TABELA 05 - PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS E TECNOLÓGICAS DESENVOLVIDAS NO NPDEAS DE 2008 A 2013.

PATENTES	
Vargas <i>et al.</i> , 2011	Photobioreactor System (Depósito nos Estados Unidos da América) US2012088296-A1 / WO2012050608-A1.
Miyawaki <i>et al.</i> , 2013.	Fotobiorreator tubular para tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões. INPI BR 10 2013 0263958. Data do depósito 14/10/2013.
ARTIGOS	
Ribeiro <i>et al.</i> , 2008	Transient modeling and simulation of compact photobioreactor. Engenharia Térmica, V. 7, p. 66-71, 2008.
Torrens <i>et al.</i> , 2008	Biodiesel from microalgae: the effect of fuel properties on pollutant emissions. Engenharia Térmica, v. 7, p. 35-43, 2008.
Morais <i>et al.</i> , 2009	<i>Phaeodactylum tricorutum</i> micralagae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions. Engenharia Térmica, V. 8, p. 84-89, 2009
Ribeiro <i>et al.</i> , 2009	The temperature response of compact tubular microalgae photobioreactors. Engenharia Térmica, v. 8, p. 50-55, 2009.
Carvalho Júnior <i>et al.</i> , 2011	Microalgae biodiesel via in situ methanolysis. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 86, p. 1418-1427, 2011
Satyanarayana <i>et al.</i> , 2011	A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. international Journal of Energy Research, v. 35, p. 291-311, 2011
D`Aquino <i>et al.</i> , 2012	A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors. Polymers Testing; V. 31, p. 638-344, 2012.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012	Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais, Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 6. p. 822-831, 2012.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012	Production of methyl oleate with a lipase from an endophytic yeast isolated from castor leaves. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 1, p. 295-300, 2012
Oliveira <i>et al.</i> , 2013	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.
Silva <i>et al.</i> , 2013	Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. (aceito para publicação). Global Change Biology Bioenergy, 2013 (aceito para publicação).

O sucesso na produção em grande escala para a obtenção de biomassa e extração de compostos bioativos ainda não foi atingido. Muitas iniciativas em diversos centros de pesquisa estão buscando desenvolver a tecnologia de produção de microalgas, contudo, em geral trabalham isoladamente. Na TABELA 06 são apresentados os principais editais de projetos aprovados para execução no NPDEAS.

TABELA 06 - PRINCIPAIS EDITAIS DE PROJETOS EXECUTADOS NO NPDEAS NO PERÍODO DE 2008 ATÉ 2013.

Período	Área de Pesquisa
2013 - Atual	Desenvolvimento de biocombustíveis através da utilização de microalgas
2012 - Atual	Projeto CNPq 482336/2012-9 - Edital Universal - Modelagem e desenvolvimento da geração de hidrogênio via cultivo de microalgas em fotobiorreatores compactos
2012 - Atual	Projeto CNPq 485058/2012-0 - Tratamento de resíduos agroindustriais e produção de biomassa para biocombustível através da operação acoplada de biodigestores e cultivo de microalgas em fotobiorreatores
2010 - 2011	Projeto CNPq 504625/2010-1 - Operação e Manutenção de fotobiorreatores para cultivo de microalgas, isolamento de lipídeos e produção de biodiesel
2010 - 2011	Projeto de Pesquisa Institucional – Cultivo de microalgas: Biocombustíveis, Coprodutos, desenvolvimento de alimentos funcionais e cosméticos.
2010 - Atual	Projeto 558835/2010-4 - Edital MCT/CNPq/FNDCT Nr 03/2010 - Análise de ciclo de vida, impacto e remediação ambiental da produção de biodiesel e energia autossustentável a partir de microalgas e outras fontes.
2009 - 2011	Convênio 048/2009-UFPR-NILKO - Desenvolvimento de fotobiorreatores compactos para cultivo de microalgas para produção de biodiesel
2008 - 2010	Projeto CNPq 574759/2008-5 - Desenvolvimento e otimização de fotobiorreatores compactos para aquicultura de microalgas para núcleo de pesquisa e desenvolvimento de energia autossustentável (NPDEAS) a partir do biodiesel
2007 - 2010	Projeto CNPq 552867/2007-1 - Ed 39/2007 Etanol/Biodiesel - Núcleo de pesquisa e desenvolvimento de energia autossustentável a partir do biodiesel e outras fontes

3. DESAFIOS

Tendo em vista as informações apresentadas na revisão bibliográfica, alguns desafios que envolvem este trabalho podem ser destacados.

- O biogás produzido na biodigestão de resíduos agroindustriais possui alta concentração de CO₂ que reduz seu poder calorífico. Desta forma, processos de purificação para remover este gás e aumentar sua qualidade são necessários.
- Os cultivos de microalgas em sistemas abertos apresentam baixo rendimento na produção de biomassa e as contaminações frequentes diminuem a eficiência geral do processo. Desta forma, se faz necessário investigar o cultivo de microalgas em sistemas fechados com foco no aumento do rendimento na produção de biomassa utilizando fontes extras de carbono.
- A redução do custo da formulação dos meios sintéticos para produção de microalgas em grande escala também se apresenta como um grande desafio. Os meios de cultivo sintéticos são custosos e inviabilizam a produção de biocombustíveis. Uma alternativa é a utilização de resíduos gerados na agroindústria que apresentam altas concentrações de elementos como fósforo e nitrogênio, e que podem servir como fonte de nutrientes para as microalgas.

4. OBJETIVO GERAL E ESPECÍFICOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a purificação do biogás produzido na biodigestão de resíduos suínos através do cultivo autotrófico de microalgas em fotobiorreator “*airlift*”, utilizando efluentes como meio de cultivo alternativo.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A fim de atingir o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos a serem executados sequencialmente ou em paralelo são apresentados:

1. Desenvolver e construir um fotobiorreator que utilize apenas ar/gás injetado para realizar a circulação do cultivo de microalgas;
2. Analisar a composição do biogás produzido na biodigestão de resíduo suíno, através de um método analítico colorimétrico e volumétrico;
3. Utilizar efluentes provenientes da biodigestão de resíduos (suíno, bovino e esgoto sanitário) na formulação de meios de cultivo alternativo em escala laboratorial (12L);
4. Produzir biomassa da microalga *Scenedesmus disciformis* em fotobiorreator nos meios de cultivos suíno, bovino e esgoto sanitário;
5. Utilizar efluentes provenientes da biodigestão de resíduos (suíno, bovino e esgoto sanitário) na formulação de meios de cultivo alternativo em escala laboratorial (12L);
6. Propor uma metodologia para purificação de biogás utilizando cultivo de microalgas em fotobiorreatores;

7. Avaliar a biorremediação de efluentes por microalgas, determinando as concentrações de nutrientes antes e depois do cultivo.
8. Desenvolver um processo de tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões controladas concomitantemente a produção de biomassa de microalgas.

A FIGURA 13 relaciona os objetivos específicos estabelecidos com as respectivas estratégias para se alcançar o objetivo proposto.

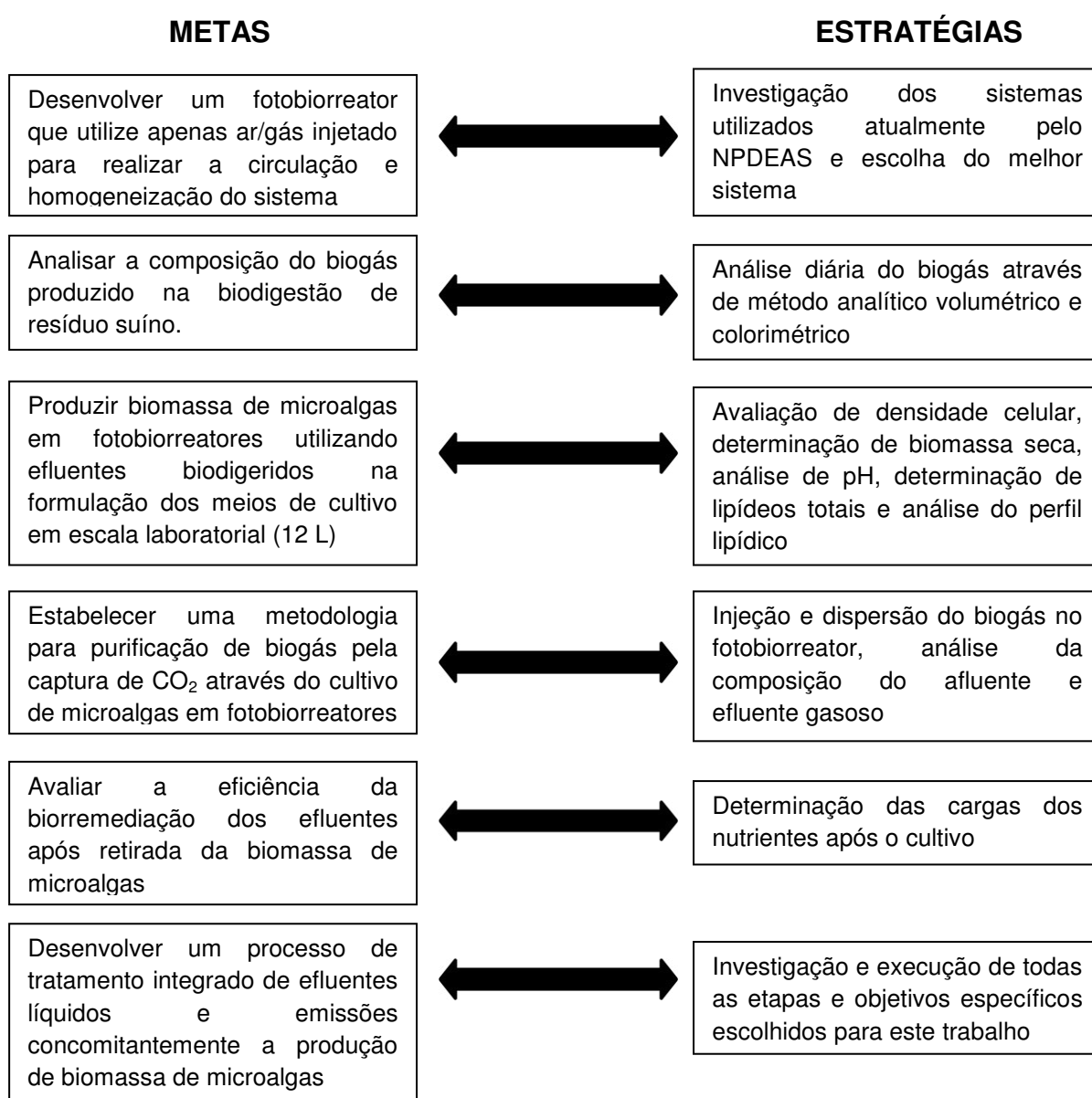


FIGURA 13 – FLUXOGRAMA DAS METAS E ESTRATÉGIAS DE TRABALHO

FONTE: O autor (2013)

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MICROALGAS

Neste trabalho foi utilizado um “mix” de microalgas com a predominância da espécie *Scenedesmus disciformis* conforme a FIGURA 14. Esse “mix” foi coletado a partir da rede de abastecimento de água do NPDEAS e tem sido utilizado em experimentos dentro do laboratório em diversos trabalhos (TAHER, 2013; OLIVEIRA, 2013; SCHROEDER, 2013). Além disso, esta espécie tem se mostrado resistente às condições ambientais da cidade de Curitiba. Conforme experimentos já realizados no NPDEAS, a microalga suportou uma amplitude térmica de $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ em diferentes experimentos.

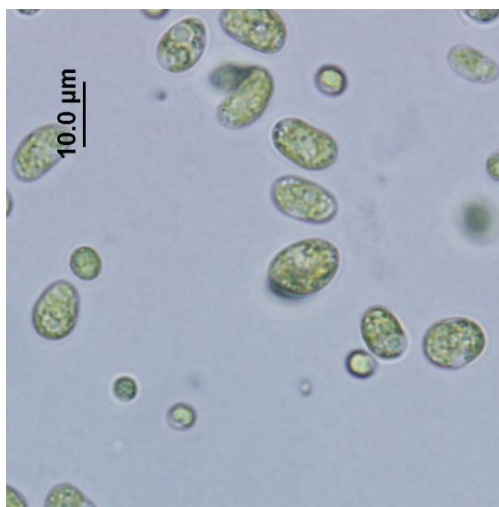


FIGURA 14 - MICROGRAFIA DO “MIX” DE MICROALGAS COM AUMENTO DE 400X COM A PREDOMINÂNCIA DA ESPÉCIE *Scenedesmus disciformis*.

Fonte: O autor (2013).

A manutenção e repique das cepas, assim como a produção do inóculo foram realizados em sala de cultivo climatizada, conforme a FIGURA 15. As microalgas foram mantidas em frascos tipo Erlenmeyer de 2 L com 1,8 L de meio líquido CHU (NBR 12648), sob a temperatura de $17 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e constante iluminação. A agitação do meio de cultura foi realizada pela adição de ar comprimido ($5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$).



FIGURA 15 - CULTIVO DE MICROALGAS EM ESCALA LABORATORIAL: (A) FOTOBIORREADORES TIPO FRASCO ERLLENMEYER DE 2 L E (B/C) SALA DE CULTIVO CLIMATIZADA PARA CULTIVO DE MICROALGAS.

Fonte: O autor (2013).

Propõe-se o uso de espécies nativas de microalgas principalmente pela sua menor sensibilidade às condições climáticas e contaminantes. Além disso, experimentos prévios realizados no laboratório sugerem excelente capacidade desta espécie para tratamento de efluentes de processos agroindustriais pelo reaproveitamento de nutrientes presentes no meio de cultivo e baixa sensibilidade a mudanças de temperatura.

5.2 CONDIÇÕES DE CULTIVO E MEIOS DE CULTURA

Os cultivos foram realizados em escala laboratorial em reator modelo *airlift*. O sistema foi instalado na parte externa do prédio do NPDEAS no campus Centro Politécnico na UFPR, em ambiente sujeito a variações climáticas (temperatura, iluminação e fotoperíodo). A concentração celular inicial foi da ordem de 400×10^4 cél.mL⁻¹. A FIGURA 16 apresenta a configuração dos fotobiorreatores. A homogeneização e circulação foram realizadas com ar e biogás utilizando compressor da marca *Schulz*, com vazão de aproximadamente 1 L.min⁻¹. De acordo com a experiência de cultivos

anteriores realizados no NPDEAS, estabeleceu-se o período de 15 dias de cultivo para avaliação dos experimentos.

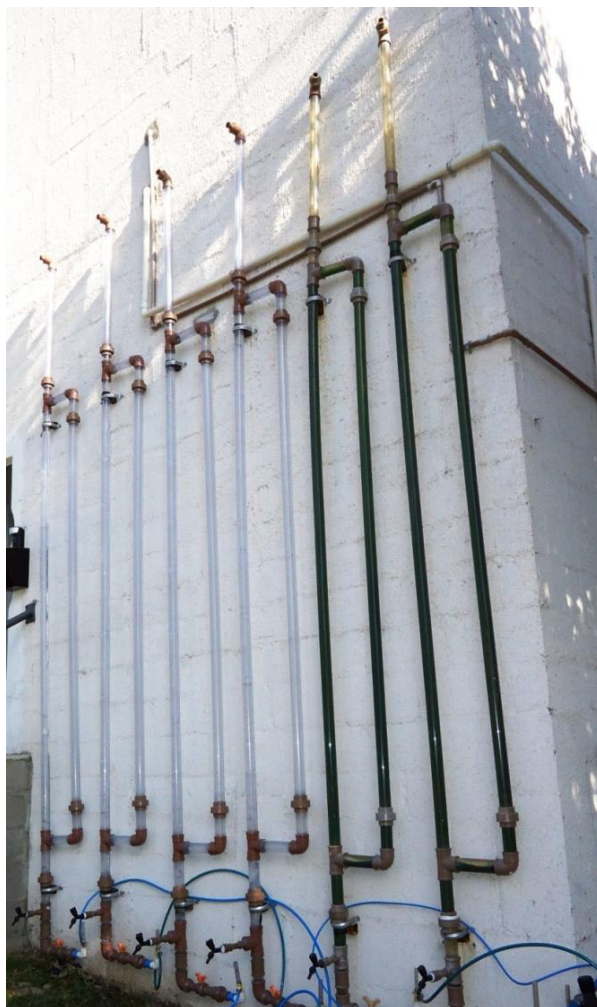


FIGURA 16 – FOTOBIOREATORES AIRLIFTs.
FONTE: O autor (2013)

5.2.1 Meio CHU

Para o cultivo das microalgas foram utilizados como meios de cultura o meio sintético CHU (CHU, 1942), e os meios alternativos provenientes da biodigestão de resíduos suíno, bovino e esgoto sanitário.

O meio de cultivo sintético usado como padrão corresponde a uma mistura de nutrientes presentes em concentrações de modo a satisfazer as necessidades nutricionais da microalga. Dentre os meios testados no NPDEAS estão os meios Guillard F/2, BBM, Zarrouk e WC. Contudo, o meio CHU

demonstrou a melhor eficiência na produção das microalgas em relação aos outros meios sintéticos testados.

A microalga foi cultivada em meio CHU conforme a norma regulamentadora NBR 12648. As soluções descritas na TABELA 07 foram preparadas com reagentes analíticos com 98% de pureza e água destilada, armazenadas em frascos âmbar e mantidas em temperatura de aproximadamente $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$.

TABELA 07 – COMPOSIÇÃO E CUSTO DO MEIO CHU

SOLUÇÃO	COMPONENTE	MASSA (mg)	CONCENTRAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO (g.L ⁻¹)	Custo CHU R\$*
1	NaNO ₃	25000	$2,5 \cdot 10^{-2}$	6,1
2	CaCl ₂ . 2H ₂ O	2500	$2,5 \cdot 10^{-3}$	0,58
3	MgSO ₄ . 7H ₂ O	7500	$7,50 \cdot 10^{-3}$	1,36
4	K ₂ HPO ₄	7500	$7,5 \cdot 10^{-3}$	4,32
5	KH ₂ PO ₄	17500	$1,75 \cdot 10^{-2}$	9,24
6	NaCl	2500	$2,5 \cdot 10^{-3}$	0,23
7	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈ Na ₂ .2H ₂ O	50000	$5,0 \cdot 10^{-2}$	4,48
8	(KOH)	31000	$3,1 \cdot 10^{-2}$	1,32
9	FeSO ₄ . 7H ₂ O	4980	$4,98 \cdot 10^{-3}$	0,13
	H ₃ BO ₃	11420	$1,14 \cdot 10^{-2}$	0,23
10	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,49	$4,9 \cdot 10^{-6}$	0,003
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,71	$7,1 \cdot 10^{-6}$	0,003
	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57	$1,57 \cdot 10^{-5}$	0,0004
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82	$8,82 \cdot 10^{-5}$	0,003
	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44	$1,44 \cdot 10^{-5}$	0,028
Custo Total:				28,02

*para 1000 Litros de cultivo

FONTE: ADAPTADA DA NBR 12648

5.2.2. Meios de cultura alternativos

Para utilização como meio de cultura os efluentes foram diluídos nos cultivos na proporção de 5% v/v para efluente suíno, 25% v/v para efluente esgoto sanitário e 30% v/v para efluente bovino. A escolha desta proporção

segue os resultados obtidos em experimentos prévios realizados no laboratório do NPDEAS, indicando estas como as melhores diluições para produção de microalgas (TAHER, 2013; OLIVEIRA, 2013).

5.2.2.1 Meio efluente bovino biodigerido

O efluente bovino utilizado como alternativa ao meio de cultivo sintético foi coletado de um biodigestor anaeróbico, coberto com lona de PVC, volume de 150 m³, com tempo de residência hidráulica de 30 dias. O biodigestor está instalado no Centro de Treinamento de Pecuaristas de Castrolanda (CTP), Castro-PR (FIGURA 17). O efluente coletado foi transportado para Curitiba-PR em reservatórios plásticos de 20 litros e armazenados em frascos de plástico, mantidos em refrigerador (-10 °C), para conservar suas características físico-químicas.



FIGURA 17 – BIODIGESTOR ANAERÓBICO DO CTP DE CASTROLANDA (CASTRO – PR).
FONTE: OLIVEIRA, (2013).

5.2.2.2 Meio efluente suíno biodigerido

O efluente suíno utilizado como meio de cultivo alternativo neste estudo foi produzido em biodigestor modular de fluxo ascendente desenvolvido e

construído pelo NPDEAS (FIGURA 12). Os resíduos suínos processados foram coletados em propriedade rurais da região metropolitana de Curitiba para a realização da biodigestão e armazenados em reservatórios previamente à sua biodigestão.

5.2.2.3 Meio efluente esgoto sanitário biodigerido

O efluente esgoto sanitário utilizado como meio de cultivo alternativo neste estudo também foi produzido em biodigestor modular de fluxo ascendente do NPDEAS (FIGURA 12). Os resíduos de esgoto sanitário utilizados na biodigestão foram provenientes da rede de esgoto da UFPR.

5.2.3 Fotobiorreator *airlift*

O fotobiorreator tubular *airlift* foi desenvolvido com o objetivo de tratar efluentes líquidos e emissões poluentes através do cultivo autotrófico de microalgas. O sistema é composto por uma válvula de entrada inferior de gás/ar, que após entrar no sistema é difundido ao passar por uma membrana porosa, criando assim microbolhas na coluna de transporte ascendente que facilitam a troca gasosa. O fotobiorreator descarta a utilização de bombas de circulação o que o torna menos custoso energeticamente e de fácil manutenção. O fotobiorreator *airlift* foi construído em PVC transparente, com um diâmetro interno de 5 cm e uma altura de 300 cm, perfazendo um volume nominal de trabalho de ± 12 L. A injeção de ar e biogás no fotobiorreator foi provida através um compressor com vazão controlada por rotâmetros. O diagrama do equipamento experimental está expresso na FIGURA 18.

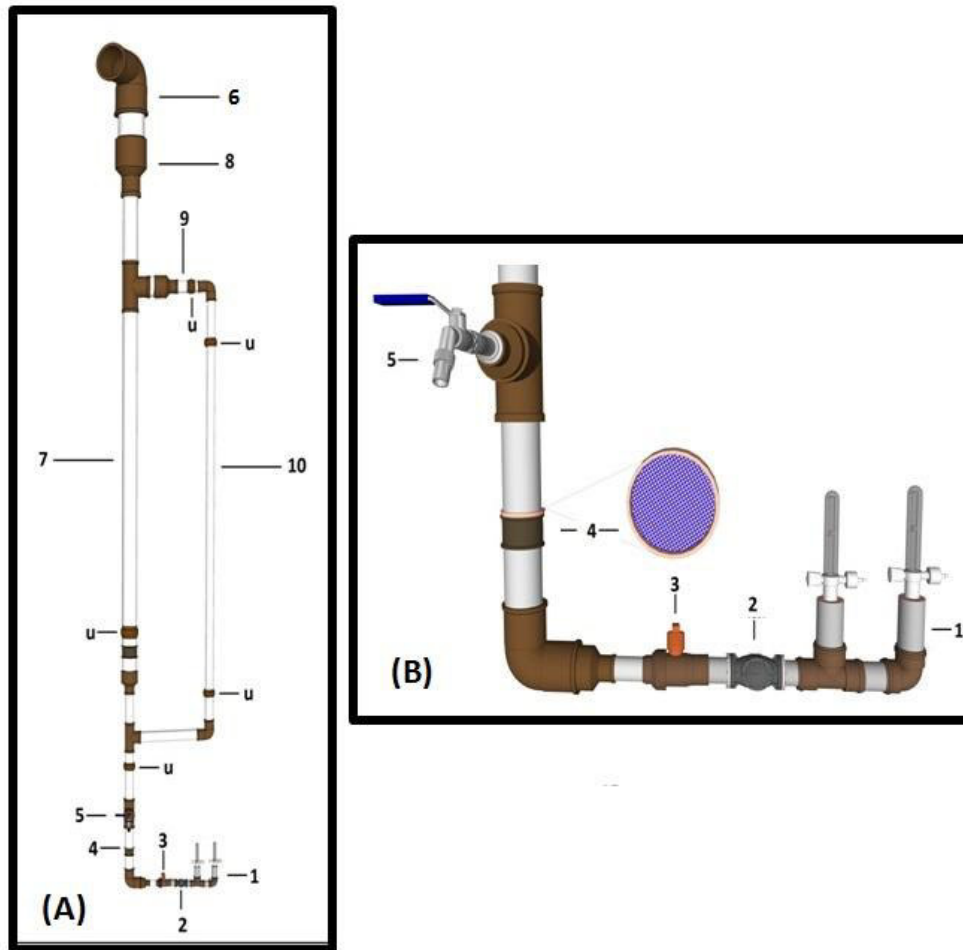


FIGURA 18 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO FOTOBIORREATOR TUBULAR *AIRLIFT*: (A) VISÃO COMPLETA DO FOTOBIORREATOR E (B) VISÃO DA PARTE INFERIOR DO FOTOBIORREATOR. ENTRADA DE AR/GÁS COM VAZÃO CONTROLADA COM MEDIDORES DE GÁS (1); VÁLVULA DE RETENÇÃO (2); VÁLVULA “ABRE/FECHA” (3); MEMBRANA DIFUSORA (4); COLETOR DE AMOSTRAS (5); SAÍDA DE GASES (6); COLUNA DE GASEIFICAÇÃO DE FLUXO ASCENDENTE (7); COLUNA DE DEGASEIFICAÇÃO DE FLUXO INTERNO (9); COLUNA DE CIRCULAÇÃO INTERNA DESCENDENTE (10); UNIÕES (U).
 FONTE: O AUTOR, 2013.

5.3 PRODUÇÃO DE BIOGÁS

Para a produção de biogás foi utilizado o biodigestor modular de fluxo ascendente com baixo tempo de retenção hidráulico desenvolvido pelo NPDEAS (FIGURA 12). O resíduo sem qualquer tratamento preliminar foi colocado no biodigestor diariamente e o biogás produzido coletado na parte superior do reator e armazenado em balão após o pré-tratamento de dessulfurização química. O biogás foi então comprimido para ser utilizado nos

experimentos propostos. Para a realização do processo de biodigestão foram utilizados resíduos originados da produção de suínos da região metropolitana de Curitiba – PR.

5.3.1 Avaliação da composição do biogás

A determinação dos principais constituintes do biogás foi realizada através do “Kit Biogás” desenvolvido pela *EMBRAPA Suínos e Aves* e a *Alfakit*, segundo método desenvolvido por Kunz e Sulzbach (2007) (FIGURA 19). O “Kit Biogás” permite o monitoramento da composição do biogás, de modo rápido, fácil e eficiente. A determinação de gás carbônico e metano são realizadas por um analisador de diferença de volume. O “Kit Biogás” apresenta um erro de $\pm 2,5\%$ para as concentrações de dióxido de carbono e metano.



FIGURA 19 - KIT BIOGÁS DESENVOLVIDO PELA EMBRAPA
FONTE: KIT BIOGÁS – Alfakit/EMBRAPA

5.4 UTILIZAÇÃO DE BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS

O biogás utilizado neste estudo foi primeiramente dessulfurizado por absorção química através de filtros contendo limalha de ferro, resultando no limite de concentração de 100 ppm de H₂S. Kao *et al.* (2012) observaram esta concentração de H₂S como ideal para cultivo de *Chlorella* sp., assim foi adotado este valor nos experimentos realizados.

Após o processo de dessulfurização, o biogás foi estocado em balão de armazenamento e então comprimido para uso no cultivo de microalgas, como mostrado na FIGURA 20. O sistema de coleta do biogás foi composto de tubulação de coleta; compartimento hermético com selo hídrico e reservatório de biogás. O processo de compressão do biogás foi realizado com compressores da marca *Schulz*

A fim de se obter uma concentração de aproximadamente 10 % (v/v) de CO₂ na mistura de ar/biogás injetado no cultivo de microalgas, diariamente foi determinada a composição do biogás bruto antes da mistura. A injeção da mistura de ar e biogás no cultivo ocorreu durante todo o experimento, no período do dia de radiação máxima de luz solar (10:00 – 14:00) e foi controlada com um fluxômetro de gás comprimido, em uma taxa de fluxo de 1 L.min⁻¹. Essas condições foram escolhidas devido a limitação do volume do biogás disponível, tempo de operação e volume reduzido do sistema.

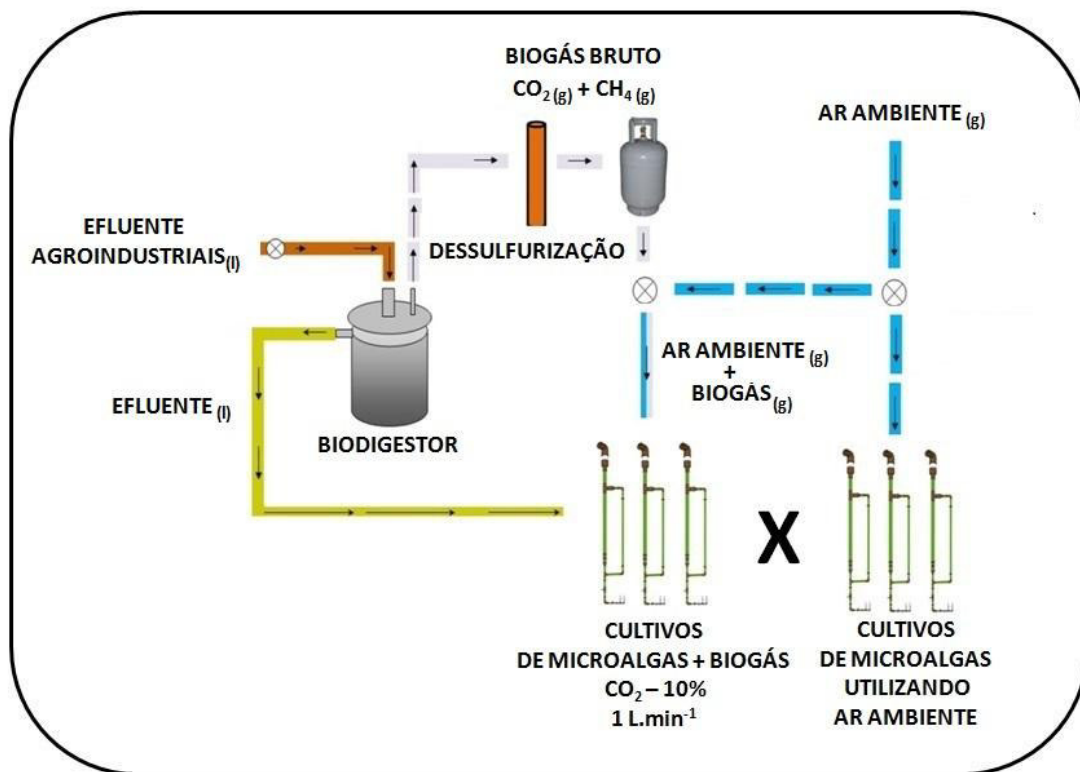


FIGURA 20 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE NA CULTURA DE MICROALGAS COMO FONTE DE CARBONO.

Fonte: O Autor 2013

5.5 PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS

Para determinar a capacidade de remoção de CO_2 presente no biogás e sua purificação pelo cultivo de microalgas em fotobiorreator, a cultura de microalgas foi aerada com 100% de biogás a uma taxa de fluxo de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Amostras de entrada e saída de biogás foram coletadas para avaliação a cada 30 minutos até saturação total do gás em relação à concentração de dióxido de carbono inicial (FIGURA 21).

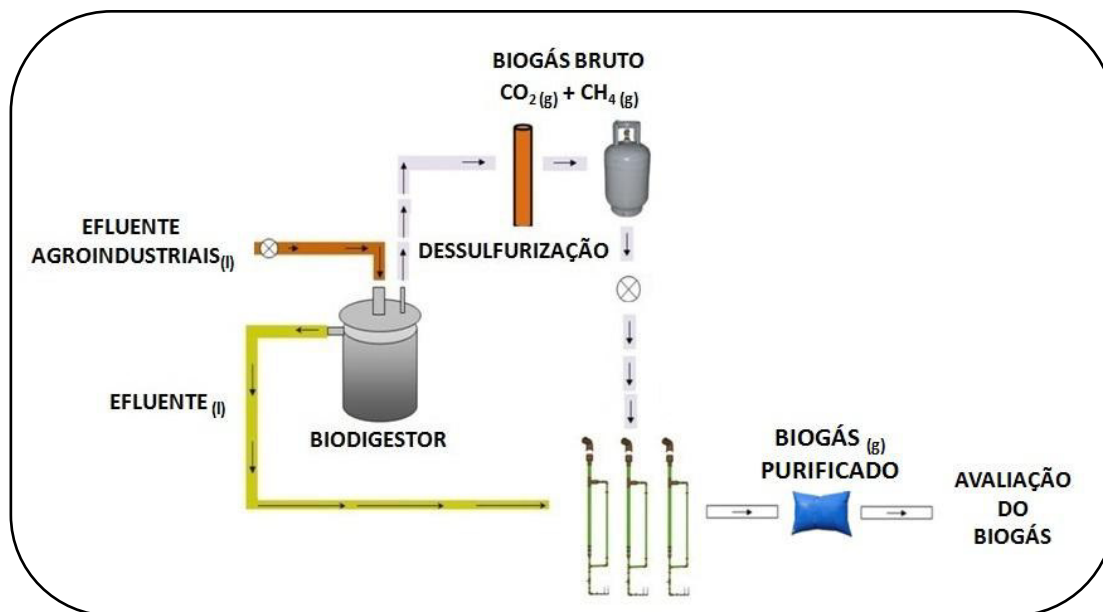


FIGURA 21 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS PELO CULTIVO DE MICROALGAS.

Fonte: O Autor 2013

A determinação da composição do biogás foi realizada com o "Kit de análise de biogás" conforme seção 5.3.1.

A eficiência de captura de CO₂ (E_{CapCO_2} %) foi calculada pela equação 1 seguindo o método relatado por Devinny *et al.* (1999) e Jacob Lopes *et al.* (2009).

$$E_{CapCO_2} (\%) = \frac{\text{Afluente } CO_2 - \text{Efluente } CO_2}{\text{Afluente } CO_2} \times 100 \quad (1)$$

em que:

Afluente CO₂ = Concentração de dióxido de carbono no biogás antes da purificação;

Efluente CO₂ = Concentração de dióxido de carbono no biogás depois da purificação.

A eficiência de enriquecimento do biogás E_{EnrCH_4} (%) foi calculado pela equação 2:

$$E_{EnrCH_4} (\%) = \frac{\text{Efluente } CH_4 - \text{Afluente } CH_4}{100 - \text{Afluente } CH_4} \times 100 \quad (2)$$

em que:

Afluente CH₄ = Concentração de metano no biogás antes da purificação;

Efluente CH₄ = Concentração de metano no biogás depois da purificação.

Os testes foram realizados no 7^o dia de cultivo, durante a fase exponencial de crescimento. Nesta fase a microalga apresenta a maior taxa fotossintética, necessitando de grandes concentrações de CO₂ para realizar a fotossíntese.

5.6 AVALIAÇÃO DO CULTIVO

A avaliação dos cultivos foi realizada em função da determinação dos seguintes parâmetros: caracterização da cinética de crescimento, quantificação de biomassa seca, produtividade diária de biomassa seca, determinação da quantidade de lipídeos totais e determinação de pH.

5.6.1 Caracterização da cinética de crescimento

Neste trabalho foi realizada a caracterização da cinética de crescimento em todos os experimentos. Foi padronizada a concentração celular inicial de 400×10^4 cél.ml⁻¹ em todos os experimentos. As variações da densidade celular das microalgas ao longo do desenvolvimento do cultivo foram acompanhadas diariamente pela contagem de células em microscópio (aumento de 400×), com auxílio de uma câmara de Neubauer (*Improved Chamber*) de acordo com o protocolo de Vega e Voltolina (2007). A densidade celular foi expressa em número de células por mililitro de cultivo (cél.mL⁻¹) de uma média de três contagens. O resultado foi representado como a média \pm 2 vezes o desvio padrão. Com os dados experimentais de densidade celular, foram elaborados gráficos em função do tempo (dia).

A equação logística foi ajustada aos dados experimentais (de densidade celular) por regressão não linear, com auxílio do programa TK Solver 5.0, aplicando-se a equação 3, detalhada a seguir:

$$N = N_{\max} / [1 + (N_{\max} / N_0 - 1) \cdot \exp(-\mu t)] \quad (3)$$

em que:

N = densidade celular (células.mL⁻¹);

N_0 = densidade celular inicial (células.mL⁻¹);

N_{\max} = densidade celular máxima (células.mL⁻¹);

μ = velocidade específica de crescimento (dia⁻¹);

t = tempo de cultivo (dias).

5.6.2 Determinação da biomassa seca

Para a determinação da biomassa seca (g.L⁻¹), diariamente foram coletados 30 ml do meio para a quantificação da biomassa em triplicata. 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 mantidos em estufa a 60 °C até que o peso se mantivesse constante. A massa dos microfiltros secos foi aferida. A biomassa seca foi estimada através da diferença da massa dos microfiltros antes e depois da filtragem. Para aferir a massa dos microfiltros foi utilizada uma balança analítica com precisão de 0,1 mg. Três amostras de 10 mL dos cultivos foram filtradas separadamente. Os microfiltros com as amostras foram levados à estufa a temperatura de 60 °C até atingirem massa constante. Após atingirem o peso constante (aproximadamente 24h), os papéis foram cuidadosamente retirados da estufa e colocados no dissecador, com auxílio de uma bomba a vácuo foi removido o ar presente no dissecador, para que os resultados não fossem influenciados pela umidade. Ao retirar as amostras do dissecador, as massas dos microfiltros com a biomassa foram aferidas e a determinação da biomassa seca em g.L⁻¹ foi

determinada de acordo com a equação 4.

$$BS(g.L^{-1}) = \frac{F_2 - F_1}{V} \quad (4)$$

em que:

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

F1 = massa do microfiltro seco (g);

F2 = massa do microfiltro com biomassa seca (g);

V = volume de cultivo filtrado (L).

Devido a grande quantidade de sólidos totais presentes nos efluentes agroindustriais, o valor de biomassa seca inicial de cada cultivo foi subtraído das respectivas medidas diárias desse parâmetro (Δ 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.

5.6.3 Produtividade em biomassa

No monitoramento do cultivo das microalgas foi avaliada a produtividade ($g.L^{-1}.d^{-1}$), através da equação 5 descrita abaixo:

$$P (g .L^{-1} .dia^{-1}) = \frac{Biomassaseca_{final} - Biomassaseca_{inicial}}{Tempo_2 - Tempo_1} \quad (5)$$

em que:

Biomassa seca_{final} = biomassa seca do último dia de cultivo;

Biomassa seca_{inicial} = biomassa seca do dia;

Tempo₁ = dia de cultivo;

Tempo₂ = período total de cultivo.

5.6.4 Lipídeos totais

Para a quantificação 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). Essa metodologia permite a recuperação de todos os materiais apolares presentes na amostra (lipídeos neutros, pigmentos, fosfolipídios). Os ensaios foram realizados em triplicata. Foram pesados 50 mg de amostra de biomassa seca de microalga triturada em tubos de ensaio de polipropileno de 12 mL. Em seguida, adicionou-se 3 mL da mistura da solução de clorofórmio:metanol (2:1, v:v) e 10 µL de uma solução de butilhidróxi-tolueno (BHT) 1% em metanol. A seguir, as amostras foram submetidas à ultrassom em um sonicador (Unica Ultra Cleaner 1400, frequência de 40 kHz) por 3 ciclos de 15 minutos cada. Após o ultrassom, as amostras foram incubadas por 24 h a 4 °C e protegidas da luz (embrulhadas com papel alumínio para prevenir a foto oxidação das amostras) para posterior extração dos lipídeos. As amostras foram submetidas à ultrassom novamente por três ciclos de 15 min cada e centrifugadas (Centrífuga HITACHI, modelo himac CR-21E) a 5000 rpm por 10 min a 4 °C; o sobrenadante com a fase lipídica foi recuperado com uma pipeta Pasteur e reservado em outro tubo. Adicionou-se 1,5 mL da mistura de CHCl₃/CH₃OH ao tubo com a biomassa residual e centrifugou-se novamente a 5000 rpm por 10 min a 4 °C, sendo que o sobrenadante foi recuperado com uma pipeta Pasteur e transferido ao tubo reservado com a fase lipídica. Foram adicionados 2 mL de água destilada e 1 mL de clorofórmio ao tubo reservado, as amostras foram então centrifugadas a 5000 rpm por 10 min a 4 °C. Em seguida, a fase inferior (clorofórmio:lipídeo) foi recuperada, com uma pipeta Pasteur, e transferida para um *vial* de vidro pré-pesado. A fase aquosa foi lavada com 1 mL de clorofórmio e centrifugada novamente a 5000 rpm 10 min a 4 °C. Então, a fase inferior foi recuperada e transferida para o *vial* de massa conhecida. O *vial* foi levado a uma câmara de exaustão de gases, onde o clorofórmio da fase clorofórmio:lipídeo foi evaporado. Por fim, o *vial* com a fração lipídica foi pesado e a quantidade de lipídeos totais foi determinada em gramas de lipídeo por litro de cultura

microalgal e em % de biomassa seca de acordo com as equações 6 e 7, respectivamente:

$$Lípídeos Totais (g.L^{-1}) = \frac{(V_2 - V_1) \cdot B}{C} \quad (6)$$

em que:

V_1 – massa do *vial* vazio (g);

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

B – biomassa seca do cultivo (g.L⁻¹);

C – biomassa seca utilizada na extração de lipídeos (g).

O teor de lipídeos em porcentagem foi determinado pela equação:

$$Lípídeos Totais (\%) = \frac{(V_2 - V_1) \cdot 100}{C} \quad (7)$$

em que:

V_1 – massa do *vial* vazio (g);

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

C – biomassa seca utilizada na extração de lipídeos (g).

5.6.5 Determinação do pH dos cultivos

A determinação do pH das culturas foi realizada através de leitura direta na amostra em pHmetro digital (da marca Gehaka PG 1800) e registrada a cada 24 horas. O pH da água é fundamentalmente influenciado pelas proporções entre formas de carbono dissolvidas nessa água. O crescimento autotrófico de microalgas em cultivos envolve o consumo de CO₂ dissolvido no meio, aumentando o pH do sistema, que pode atingir níveis tóxicos para muitas espécies. O pH determina a solubilidade do dióxido de carbono e minerais no meio e influencia direta ou indiretamente o metabolismo das microalgas

(BECKER, 1994). Desta forma, é de extrema importância a monitoração do pH para avaliar o consumo de CO₂ pelas microalgas e as condições do meio.

5.6.6 Separação da biomassa e clarificado

Para a separação da biomassa total de microalgas ao final dos cultivos foram utilizados os métodos de floculação química por cloreto férrico heptahidratado (FeCl₃.7H₂O) e filtração. Foram adicionados inicialmente 0,1 mL de solução de FeCl₃.7H₂O para cada 100 mL de cultura, a uma concentração final de ~ 0,3 mM. As condições de agitação foram: agitação rápida (500 rpm) por 2 minutos e agitação lenta (250 rpm) por 5 minutos. Nos casos onde não se observou a formação de flocos, adicionou-se mais 0,05 mL de solução de FeCl₃.7H₂O, seguida de homogeneização até formação de flocos. A mistura foi mantida em repouso para decantação das células. O período de sedimentação média foi de 24 horas. Após a total sedimentação, a biomassa foi recuperada e o sobrenadante clarificado foi retirado e levado para determinação de nutrientes (FIGURA 22).

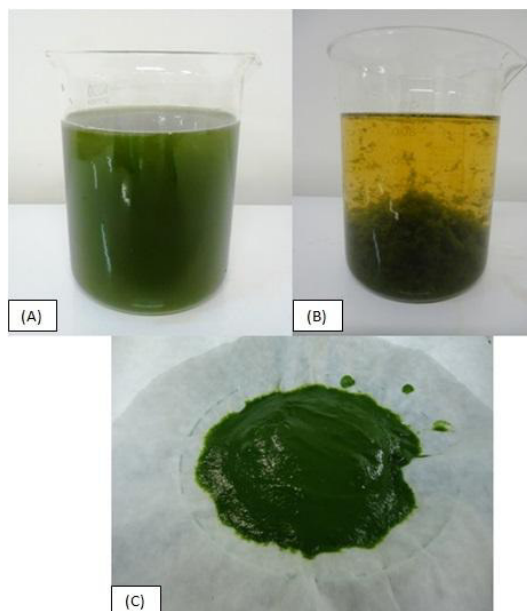


FIGURA 22 - PROCESSO DE FLOCULAÇÃO QUÍMICA E FILTRAÇÃO. (A) ANTES DA FLOCULAÇÃO, (B) APÓS A ADIÇÃO DE CLORETO FÉRRICO HEPTAHIDRATADO E AGITAÇÃO, (C) FILTRAÇÃO. FONTE: O autor (2013).

5.7 AVALIAÇÃO DA BIORREMEDIAÇÃO DOS RESÍDUOS

Neste trabalho, após o processo de separação da biomassa de microalgas (descrito no item 5.6.6), o líquido clarificado recuperado, assim como o efluente suíno biodigerido escolhido para o teste de biorremediação, foram submetidos a avaliação de cargas de fosfato, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal para determinação de remoção de matéria orgânica e biorremediação do efluente. Também foi avaliada a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e a demanda química de oxigênio (DQO) (ANEXO 01 e 02).

A DBO é um indicador que determina indiretamente a concentração de matéria orgânica biodegradável através da demanda de oxigênio exercida por microrganismos através da respiração. A DBO é um teste padrão, realizado a uma temperatura constante de 20° C e durante um período de incubação também fixo, 5 dias.

A demanda química de oxigênio (DQO) é um indicador de matéria orgânica baseado na concentração de oxigênio consumido para oxidar a matéria orgânica, biodegradável ou não, em meio ácido e condições energéticas por ação de um agente químico oxidante forte.

5.8 PARÂMETROS HIDRODINÂMICOS DO FOTOBIORREATOR

A seguir são apresentadas as metodologias utilizadas nas determinações dos principais parâmetros hidrodinâmicos do fotobiorreator desenvolvido e construído neste trabalho.

5.8.1 Tempo de circulação

O tempo de circulação (t_c) é definido como o tempo médio necessário para que parte do fluido realize uma circulação completa pelo fotobiorreator. Para calcular a velocidade superficial do líquido utiliza-se o tempo de circulação (CHISTI, 1989).

Para a determinação do tempo de circulação utilizou-se o método descrito por Vasconcelos *et al.* (2003), onde uma pequena partícula esférica com densidade de aproximadamente 1 g.cm^{-3} é inserida no reator sob aeração e cronometrado o tempo de cada volta desta partícula. Após várias medidas, determinou-se a média de tempo para uma volta, sendo este definido com o tempo de circulação do líquido.

Foi utilizada como partícula uma esfera de polipropileno com 9,8 mm de diâmetro e densidade próxima de 1 g.cm^{-3} .

5.8.2 Tempo de mistura

O tempo de mistura nos fotobiorreatores é fundamental para o desempenho do equipamento. Os sistemas devem proporcionar um ambiente ideal para o crescimento dos microrganismos e consequente produção de metabólitos. A ótima mistura fornece nutrientes e gases suficientes, mantém o pH em equilíbrio, e evitam reações secundárias que levam a morte das células. Um bom índice qualitativo para esse parâmetro é o tempo de mistura (t_m), definido como o tempo necessário para a total homogeneização de determinada substância dentro do biorreator. Um tempo de mistura curto significa que a transferência de massa não limita o sistema. Existem várias formas de determinar o tempo de mistura: marcador de calor (TUNG *et al.*, 1998), pH (CHISTI, 1989), e métodos de reação com corantes com leituras por absorvância.

A detecção do tempo de mistura (t_m) foi obtida por meio de um ensaio tipo pulso. Quando o valor da variável eleita se estabiliza o t_m é determinado. Para a determinação deste parâmetro foi utilizado o método de reação com

corante com leituras por absorvância em 540 nm.

Neste método de reação com corante, injetou-se uma solução com corante (cultivo de microalgas com alta densidade de células) e acompanhou-se o comportamento de estabilização desta variável. O corante foi injetado na região de mistura do reator (topo) e a coleta das amostras foi realizada manualmente na mesma região. O tm foi obtido como o tempo necessário para que o valor da absorvância alcançasse a estabilização completa dentro do fotobiorreator.

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de densidade celular, biomassa e lipídeos apresentados neste trabalho são as médias dos resultados das triplicatas das amostras de cada experimento \pm duas vezes o desvio padrão. Utilizou-se dois desvios padrões de modo que os resultados representem 95% de confiabilidade das amostras considerando uma distribuição normal.

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 Excell. O “teste t” de Student foi aplicado ao nível de 95% de confiabilidade de diferença estatística ($p < 0,05$).

– $p > 0,05$ significa que não houve diferença significativa entre a média das amostras;

– $p < 0,05$ significa que houve diferença significativa entre a média das amostras.

Os pontos assinalados com asterisco (*) nos gráficos de biomassa seca e crescimento celular demonstram que houve diferença estatística entre as condições comparadas

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados em cinco seções conforme a FIGURA 23. A primeira trata do desenvolvimento e construção do fotobiorreator *airlift* utilizado neste trabalho e os principais parâmetros hidrodinâmicos do sistema. A avaliação do crescimento do *mix de* microalgas é descrita na segunda seção. Nesta etapa, foram realizadas diariamente contagens celulares, quantificação de biomassa seca e determinação dos valores de pH. Na terceira seção são relatados os experimentos realizados para definir uma metodologia de utilização de biogás como fonte de dióxido de carbono e uma metodologia de purificação do biogás pelo cultivo autotrófico de microalgas. A quarta seção trata da quantificação de lipídeos totais. Finalmente a quinta seção corresponde a biorremediação dos efluentes pelas microalgas.

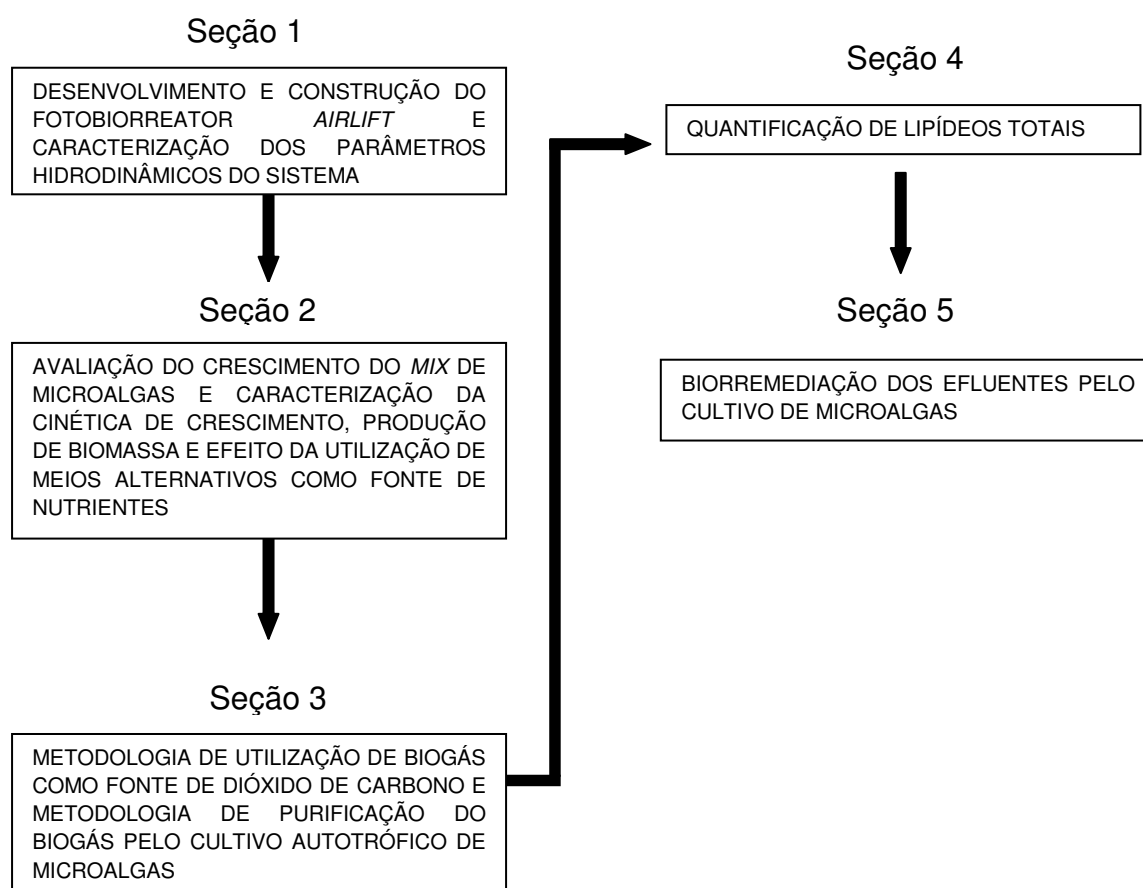


FIGURA 23 – FLUXOGRAMA DA APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS OBTIDOS NESTE TRABALHO.

FONTE: O Autor (2013).

6.1 CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS HIDRODINÂMICOS DO FOTOBIORREATOR

Após a pesquisa realizada a respeito das metodologias atualmente empregadas na produção de microalgas e as características intrínsecas a cada uma delas, somada a experiência da equipe do NPDEAS na construção e desenvolvimento de fotobiorreatores, foi possível determinar o melhor caminho para o desenvolvimento de um sistema com as características necessárias para o desenvolvimento dos experimentos.

O ponto de partida dessa etapa inicial foi dado na percepção dos requisitos necessários para à produção de microalgas associada à necessidade da purificação do biogás, levando em consideração os custos para a sua realização. O sistema primeiramente desenvolvido (FIGURA 24) funcionou como um protótipo que, após o aperfeiçoamento, permitiu a realização dos experimentos propostos.

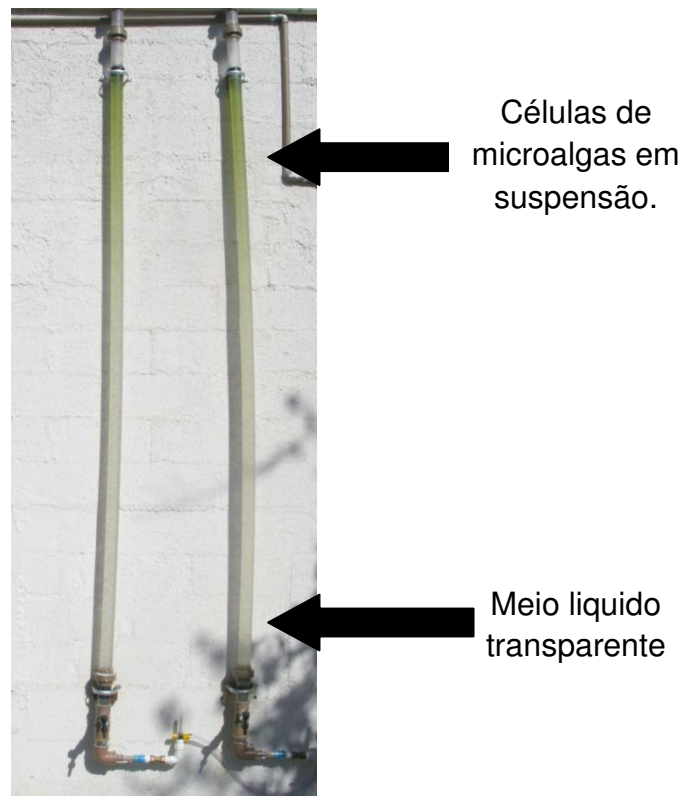


FIGURA 24 – FOTOBIORREATOR MODELO COLUNA DE BOLHAS.

FONTE: O Autor (2013).

Inicialmente foi proposto um fotobiorreator modelo coluna de bolhas, onde o ar/gás era injetado na parte inferior do sistema e exalado na parte superior. Contudo, observou-se a formação de duas fases dentro do fotobiorreator, na parte superior as células de microalgas em suspensão e na parte inferior o meio líquido transparente, como pode ser observado na FIGURA 24. A causa principal deste fenômeno é a flotação das células ocasionada pelas microbolhas formadas dentro do reator pela membrana difusora. O ar/gás injetado é difundido pela membrana em pequenas bolhas que facilitam a separação das células em suspensão.

Desta forma, algumas modificações foram realizadas com objetivo de se obter uma melhor condição de circulação e homogeneização dentro do sistema. O sistema optado então foi o fotobiorreator modelo *airlift* de circulação externa conforme FIGURA 25.



FIGURA 25 – FOTOBIORREATOR MODELO *AIRLIFT* DE CIRCULAÇÃO EXTERNA.
FONTE: O Autor (2013).

Neste modelo de fotobiorreator a circulação e a homogeneização do meio ocorrem devido ao movimento do fluido dentro do sistema, resultado da injeção do ar/gás na parte inferior do reator.

Os fotobiorreatores *airlifts* se apresentam como alternativas para o cultivo de microalgas e mitigação de gases, uma vez que atingem níveis ótimos de mistura e transferência de massa devido à injeção de ar na parte inferior da coluna ascendente. Krichnavaruk *et al.* (2005) demonstraram recentemente que projetos de fotobiorreatores utilizando sistemas de transporte aéreo podem melhorar drasticamente a qualidade do cultivo de microalgas, em especial em relação à produtividade. É importante ressaltar que a circulação e homogeneização do sistema ocorrem sem a utilização de bombas, assim a mistura no reator é obtida de maneira eficiente sem provocar o cisalhamento das células.

6.1.1 Tempo de circulação (t_c)

O tempo de circulação (t_c) do fluido dentro do sistema foi medido pelo tempo da circulação de uma esfera com densidade de 1 g.cm^{-3} . A TABELA 08 apresenta os resultados dos tempos médios de circulação para diferentes vazões de ar. Foram realizadas cinco medidas para cada vazão em temperatura ambiente.

TABELA 08 – TEMPOS DE CIRCULAÇÃO OBTIDOS PELO MÉTODO DA ESFERA

Vazão de ar/gás (L.min^{-1})	Tempo 01 (seg)	Tempo 02 (seg)	Tempo 03 (seg)	Tempo 04 (seg)	Tempo 05 (seg)	Média	Desvio Padrão
1	24,9	24,7	24,8	23,9	24,9	24,7	0,4
2	25,5	24,9	25,5	26	25,4	25,5	0,4
3	27,5	27,8	28,9	30,1	31,1	29,1	1,3

FONTE: O Autor (2013).

Observa-se que para vazões de ar mais altas o tempo de circulação aumentou, sendo o maior valor obtido para a vazão de $3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Uma das causas deste fenômeno se deve ao fato de que o gás não consegue mais transferir quantidade de movimento ao líquido. Este mesmo comportamento de circulação foi apresentado por Chisti e Haza (2002) que utilizaram um fotobiorreator *airlift* de circulação interna. Diante desses resultados, optou-se pela vazão de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ para a realização dos ensaios e cultivos nesta dissertação. Devido ao modelo de reator escolhido, vazões de ar menores que $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ não se adequaram as necessidades de circulação e mistura exigidas para este trabalho.

6.1.2 Tempo de mistura (T_m)

O tempo de mistura foi obtido por um ensaio tipo pulso com leituras de absorvância na faixa de 540nm. O t_m foi determinado no momento em que o valor da variável eleita se estabilizou. Os dados experimentais estão apresentados na FIGURA 26.

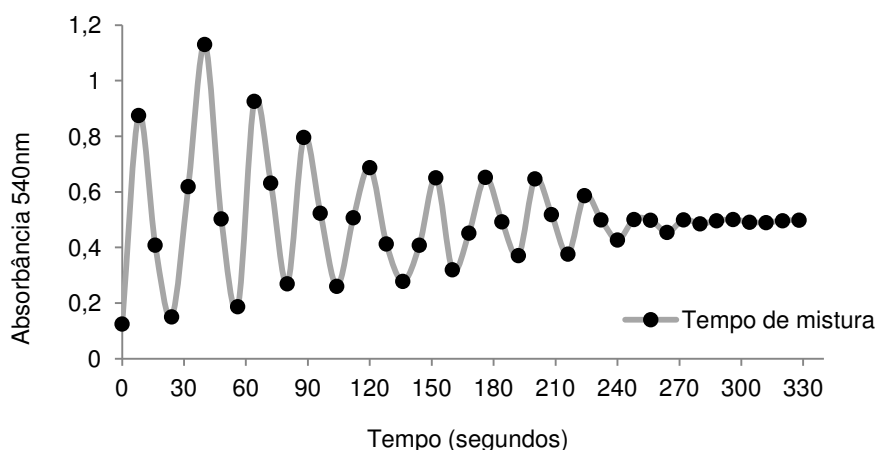


FIGURA 26 – TEMPO DE MISTURA PARA VAZÃO DE $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

FONTE: O Autor (2013).

Para a vazão de gás de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ o tempo de mistura se estabilizou após 250 segundos. Chisti e Haza (2002) desenvolveram um fotobiorreator *airlift* de circulação interna, e determinaram o tempo de mistura deste equipamento. Os resultados mostraram que o tempo de mistura foi de 35 segundos, valor muito

mais baixo quando comparado ao sistema utilizado neste trabalho. Segundo Lu *et al.* (2000) quanto menor a relação altura-diâmetro do reator, menor o tempo de mistura.

6.2 CULTIVO MIX DE MICROALGAS EM FOTOBIORREATOR AIRLIFT

Para o desenvolvimento dos experimentos foram realizadas bateladas de cultivos experimentais com o “mix” de microalgas *Scenedesmus disciformis* em reatores *airlift* (12 L) expostos a condições ambientais, ou seja, sem controle de temperatura e luminosidade. A variável de estudo nesta etapa foi a variação dos meios de cultura alternativos comparados ao meio padrão.

6.2.1 Caracterização da cinética de crescimento

O crescimento das microalgas foi avaliado pela determinação da densidade celular em função do tempo (dia). Foram levantadas curvas de crescimento em três meios de cultura alternativos provenientes da biodigestão de resíduos (efluente bovino, efluente suíno e efluente esgoto sanitário) comparados ao meio sintético CHU escolhido como meio padrão. Nesta etapa do trabalho a suplementação de carbono aos cultivos ocorreu apenas com ar ambiente com vazão de 1 L.min⁻¹. Foram determinadas diariamente a densidade celular, o pH, a biomassa seca e a produtividade de biomassa seca. A concentração inicial de células para os experimentos deste trabalho foi padronizado a 400 x10⁴ cél.mL⁻¹.

As curvas de crescimento obtidas para os diferentes meios de cultivo mostraram comportamentos distintos na duração da fase de adaptação das culturas, no número máximo de células na fase estacionária, na duração da fase exponencial, na biomassa seca e na produtividade.

Dentre os três efluentes testados como meio alternativo para produção da microalga *Scenedesmus disciformis*, o que mais se destacou foi o meio suíno, conforme a FIGURA 27.

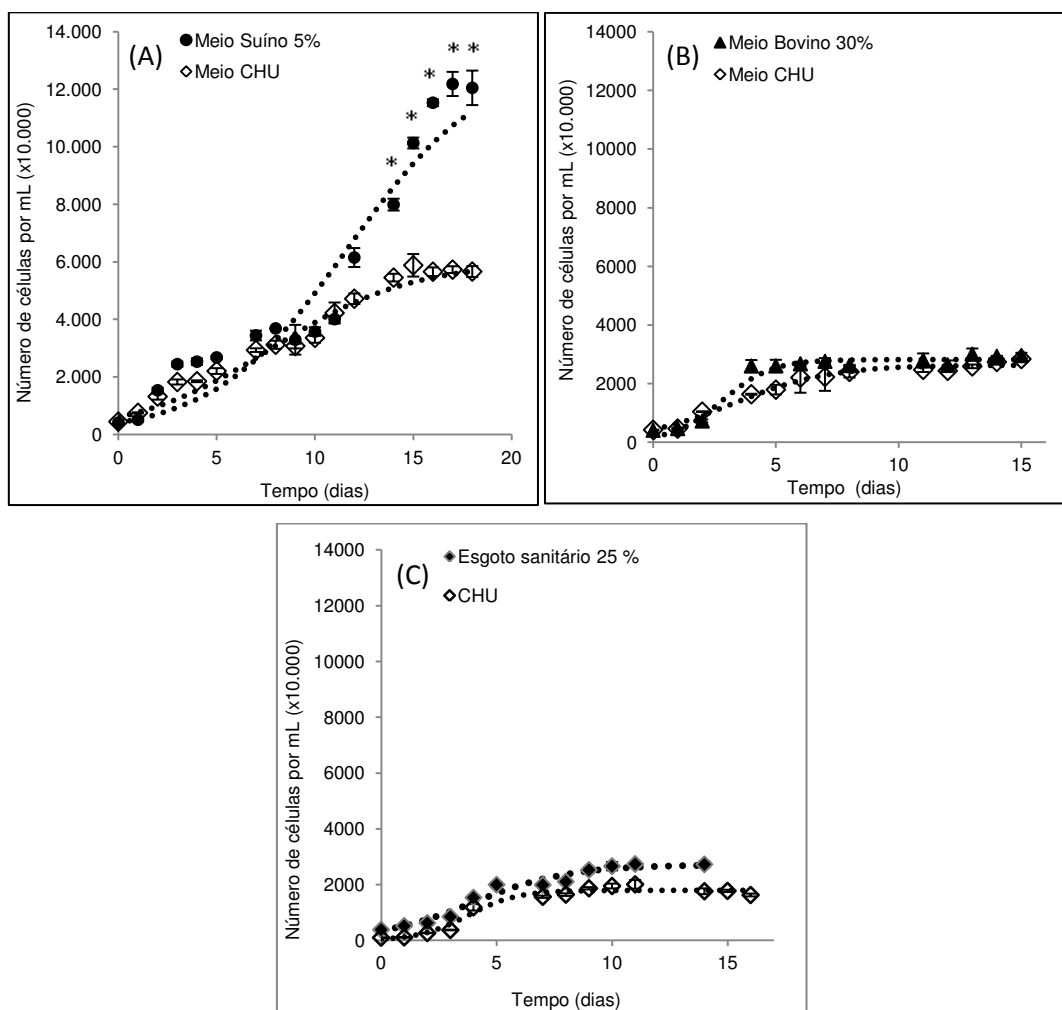


FIGURA 27 - CURVAS DE CRESCIMENTO CELULAR DO *MIX* DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO, MOSTRANDO OS AJUSTES DA EQUAÇÃO LOGÍSTICA (•••) AOS DADOS. (A) MEIO SUÍNO E MEIO CHU; (B) MEIO BOVINO E MEIO CHU; (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO E MEIO CHU.

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados em reator tipo *airlift* com volume útil de trabalho de 12 L, em condições ambientes sem controle de temperatura e luminosidade, vazão de ar de 1 L.min⁻¹.

* apresenta diferença estatística com $p < 0,05$.

No cultivo com efluente suíno a densidade celular máxima alcançada foi de $12187 \pm 420 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ no 17º dia de cultivo, cerca de 2 vezes maior do que no cultivo em meio sintético, que no mesmo período apresentou uma concentração celular máxima de $5883 \pm 391 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ ao 15º dia de cultivo.

Nos cultivos com efluente bovino a densidade celular máxima alcançada foi de $3003 \pm 194 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ no 13º dia de cultivo, e no cultivo com efluente de esgoto sanitário a densidade celular máxima foi de $2739 \pm 85 \times$

10^4 cél.mL⁻¹ no 11º dia de cultivo. Vale ressaltar que as curvas representam experimentos individuais, os quais foram realizados em períodos diferentes. Desta forma, diferenças de comportamento como as observadas no meio CHU se devem a variação de temperatura e luminosidade nos cultivos de microalgas.

Comparando os resultados aos dados apresentados pelos autores citados, os efluentes utilizados neste trabalho se mostraram eficientes em relação a concentração celular máxima atingida e produção de biomassa.

Vendruscolo (2009) cultivou a microalga *Scenedesmus quadriculata* em efluentes de biodigestão de suínos em comparação ao meio padrão CHU. Em seu estudo o pico máximo de crescimento celular alcançado foi de 102×10^4 cél.mL⁻¹ em meio CHU e 105×10^4 cél.mL⁻¹ em meio suíno bruto no décimo primeiro dia de experimento.

Mais recentemente, Taher (2013) em estudo similar realizado com a microalga *Scenedesmus* sp., também obteve resultados positivos na utilização de dejetos suínos biodigeridos como meio de cultura alternativo para produção de microalgas, alcançando densidade celular de $5199 \pm 458 \times 10^4$ cél.mL⁻¹, após o 15º dia de cultivo. O efluente utilizado foi coletado de um biodigestor de uma propriedade particular situada em Castro-PR, e diluído em 10% no meio de cultura.

Oliveira (2013) cultivou a microalga *Scenedesmus* sp. em escala laboratorial utilizando efluente bovino como meio de cultivo. Nesse trabalho o melhor resultado alcançado foi com a diluição de 30%. A autora analisou apenas a biomassa do experimento, que ao final do cultivo alcançou $0,5 \text{ g.L}^{-1}$.

Silva (2013) com a concentração de 35% de efluente de esgoto sanitário, obteve uma densidade celular de $3061 \pm 668 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ e $0,9 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa seca, cultivando a microalga *Scenedesmus* sp. em reatores *airlifts*.

A utilização de meios de cultivo que possibilitem atingir maiores concentrações de biomassa e densidade celular, como os meios alternativos testados neste trabalho apresentam como vantagem a redução do custo com meios de cultivo e a redução do custo energético no processamento do material. A operação de separação, filtração e centrifugação para colheita da microalga é facilitada quando o cultivo atinge alta densidade celular.

Como pode ser observado na FIGURA 28, a maior concentração de biomassa foi obtida com meio suíno, com concentração máxima de $1,2 \text{ g.L}^{-1}$ ao 17º dia de experimento. Contudo, quando comparado ao resultado obtido com o meio sintético que atingiu $1,1 \text{ g.L}^{-1}$, percebe-se que não houve diferença. A menor concentração de biomassa obtida neste estudo foi verificada para o meio esgoto sanitário com $0,8 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,9 \text{ g.L}^{-1}$ para o meio bovino.

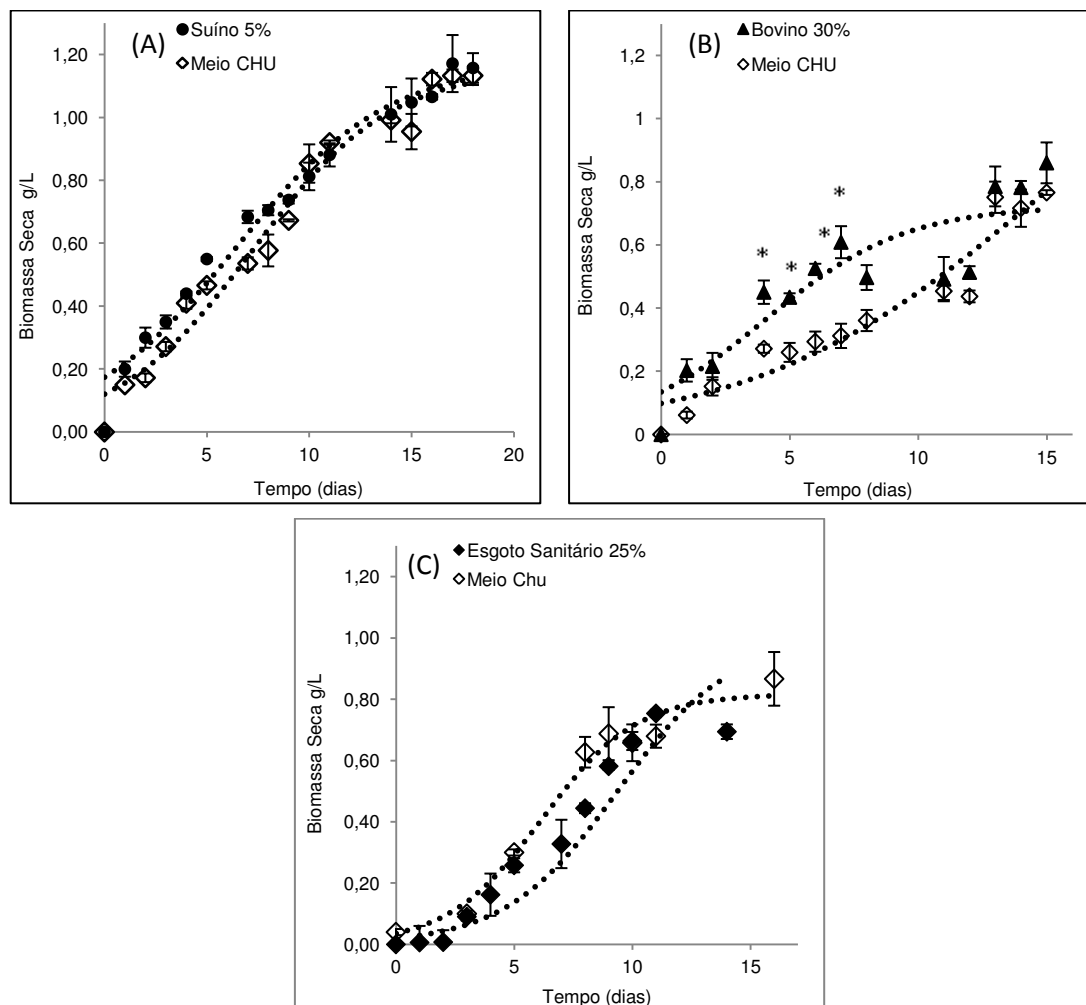


FIGURA 28 - CURVAS DE BIOMASSA SECA (g.L^{-1}) DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO, MOSTRANDO OS AJUSTES DA EQUAÇÃO LOGÍSTICA (•••) AOS DADOS. (A) MEIO SUÍNO E MEIO CHU; (B) MEIO BOVINO E MEIO CHU; (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO E MEIO CHU.

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados em reator tipo *airlift* com volume útil de trabalho de 12 L, em condições ambientes sem controle de temperatura e luminosidade, vazão de ar de 1 L.min^{-1} .

* apresenta diferença estatística com $p < 0,05$.

A TABELA 09 apresenta uma correlação da biomassa seca e da densidade celular nos experimentos realizados

TABELA 09 – CORRELAÇÃO DA DENSIDADE CELULAR E BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS EM REATORES AIRLIFT EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO

MEIO DE CULTIVO	BIOMASSA SECA (g.L ⁻¹)	DENSIDADE CELULAR (Cél.mL ⁻¹ x10 ⁴)*	pg.CÉLULAS ⁻¹ *
CHU	1,1	5883	19
Efluente suíno	1,2	12187	10
Efluente bovino	0,9	3003	30
Efluente esgoto sanitário	0,8	2739	29

FONTE: O autor (2013)

As diferenças de comportamento da microalga em cada meio utilizado estão associadas com a concentração de nutrientes em cada efluente, e conseqüentemente com a disponibilidade desses elementos para as microalgas. Em meios de cultura com grande disponibilidade de nitrogênio as células tendem a se multiplicar. Por outro lado, em meio com deficiência de nitrogênio as células tendem a armazenar lipídeos, aumentando assim o tamanho da célula (LOURENÇO, 2006).

Vale ressaltar, que os meios de cultura utilizados apresentam diferenças significativas em sua composição, devido a origem do substrato utilizado na biodigestão e a diferença da uniformidade do material coletado. De acordo com análises laboratoriais da composição dos meios (ANEXO 1, 3 e 4), o meio de cultura suíno apresenta a maior concentração de nitrogênio, elemento essencial para o desenvolvimento das células (TABELA 10).

TABELA 10 – CONCENTRAÇÃO DE NUTRIENTES NOS MEIOS DE CULTIVO UTILIZADOS

NUTRIENTES	Concentração (mg.L ⁻¹)			
	CHU	Efluente Suíno 5%	Efluente Esgoto Sanitário 25%	Efluente Bovino 30%
Fósforo	25	5	1,12	14
Nitrato (NO ₃ ⁻)	25	<0,125	<2,50	<0,1
Nitrito (NO ₂ ⁻)	---	<0,025	<0,50	<0,01
Nitrogênio amoniacal (NH ₃)	---	144	106	58

* Fontes de Nitrogênio e Fósforo na formulação do meio sintético CHU

Fonte: O autor (2013).

Para o meio sintético a principal fonte de nitrogênio e fósforo provém de sais de sódio (NaNO₃) e potássio (K₂HPO₄, KH₂PO₄), respectivamente. Por

outro lado, nos meios alternativos percebe-se a presença de altas quantidades de nitrogênio amoniacal.

Segundo Perdomo *et al.* (2001), os efluentes originados na biodigestão podem apresentar considerável variação em sua composição, devido principalmente ao tratamento nutricional dos animais e ao processo de biodigestão utilizado. Desta forma, a composição química do meio de cultura a base de efluentes pode variar na concentração de nutrientes e também na turbidez, tendo efeito direto sobre a irradiação luminosa nos cultivos.

Dentre os fatores mais importantes no cultivo de microalgas, a luz se apresenta como fator essencial ao crescimento das microalgas. Segundo MESEK *et al.* (2005) o tempo de exposição a altas intensidades luminosas facilita o crescimento das microalgas, aumentando a produção de biomassa e a utilização da matéria orgânica. Isso explica as diferenças nas fases iniciais de adaptação dos cultivos, que podem estar ligadas à turbidez dos efluentes utilizados. Desta maneira, de acordo com as curvas de crescimento, percebe-se que nos cultivos em meio bovino e esgoto sanitário a adaptação foi mais rápida devido a menor turbidez do meio e conseqüentemente a maior incidência de luminosidade nos cultivos FIGURA 29. Em contra partida, o meio suíno apresentou maior carga orgânica dificultando o processo de adaptação da microalga ao meio na fase inicial (FIGURA 27).

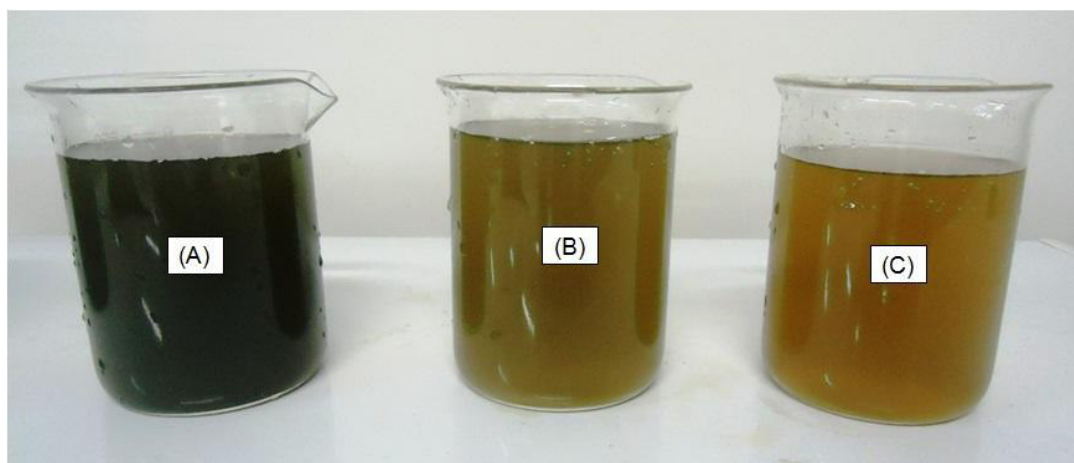


FIGURA 29 – TURBIDEZ DOS MEIOS DE CULTIVOS UTILIZADOS, (A) MEIO SUÍNO, (B) MEIO BOVINO E (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO.
FONTE: O Autor

As TABELAS 11,12 e 13 apresentam os dados diários de densidade celular, biomassa seca, produtividade e pH nos experimentos realizados.

TABELA 11 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO CHU E ESGOTO SANITÁRIO 25%. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Meio CHU					Meio Esgoto Sanitário (25%)				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	100	2	0,0	0,00	7,5	386	31	0,0	0	9,3
1	110	4	0,04	0,15	8,4	520	43	0,0	0,01	9,1
2	265	7	0,06	0,09	8,7	626	9	0,0	0,00	9,2
3	374	12	0,10	0,09	9,6	851	40	0,1	0,03	9,5
4	1187	116	0,15	0,10	8,8	1536	41	0,2	0,04	9,5
5	1565	41	0,30	0,09	9,0	1997	90	0,3	0,05	10,0
7	1642	47	0,34	0,08	9,4	1991	14	0,3	0,05	10,2
8	1868	42	0,55	0,07	9,0	2108	48	0,4	0,06	9,5
9	1950	86	0,63	0,07	9,0	2527	103	0,6	0,06	8,9
10	2009	154	0,69	0,09	9,4	2661	150	0,7	0,07	10,6
11	1762	105	0,66	0,08	9,8	2739	85	0,8	0,07	9,3
14	1775	42	0,68	0,00	9,0	2725	105	0,7	0,05	9,2

FONTE: O Autor (2013).

TABELA 12 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DOS CULTIVOS EM MEIO CHU E MEIO SUÍNO 05%. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Meio Sintético CHU					Meio Suíno (5%)				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	450	51	0,0	0,0	7,5	413	16	0,0	0,0	7,8
1	756	19	0,2	0,15	8,4	517	71	0,2	0,2	8,4
2	1322	108	0,2	0,09	8,7	1539	90	0,3	0,15	8,9
3	1828	89	0,3	0,09	9,6	2447	91	0,4	0,12	9,6
4	1854	31	0,4	0,10	8,8	2534	112	0,4	0,11	9,3
5	2208	100	0,5	0,09	9,0	2681	55	0,6	0,11	9,1
7	2936	63	0,5	0,08	9,4	3443	170	0,7	0,10	8,9
8	3122	141	0,6	0,07	9,0	3689	11	0,7	0,09	9,1
9	3077	83	0,7	0,07	9,0	3297	517	0,7	0,08	9,1
10	3362	171	0,9	0,09	9,4	3580	150	0,8	0,08	9,4
11	4226	365	0,9	0,08	9,8	4014	110	0,9	0,08	9,0
12	4721	184	---	---	9,0	6153	330	---	---	9,1
14	5456	134	1,0	0,07	9,0	7993	206	1,0	0,07	9,2
15	5883	391	1,0	0,06	9,3	10134	189	1,1	0,07	9,1
16	5661	150	1,1	0,07	9,2	11533	119	1,1	0,07	9,3
17	5733	118	1,1	0,07	9,6	12187	420	1,2	0,07	9,1
18	5666	190	1,1	0,06	9,9	12051	599	1,2	0,06	9,1

FONTE: O Autor (2013).

TABELA 13 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DOS CULTIVOS EM MEIO CHU E MEIO BOVINO 30%. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Meio CHU					Meio Bovino 30%				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	422	0	0,0	0	7,1	408	0	0,0	0	8,0
1	464	6	0,1	0,06	7,5	466	37	0,2	0,2	8,7
2	1042	10	0,2	0,08	7,4	724	52	0,2	0,11	8,5
4	1635	17	0,3	0,07	8,4	2600	205	0,5	0,11	9,4
5	1793	165	0,3	0,05	8,5	2603	208	0,4	0,09	9,9
6	2204	516	0,3	0,05	9,6	2676	72	0,5	0,09	10,2
7	2226	474	0,3	0,04	9,3	2759	111	0,6	0,09	8,5
8	2398	191	0,4	0,05	8,4	2617	22	0,5	0,06	8,5
11	2470	75	0,5	0,04	8,4	2803	227	0,5	0,04	8,3
12	2435	41	0,4	0,04	8,4	2636	253	0,5	0,04	8,1
13	2588	63	0,8	0,06	8,3	3003	194	0,8	0,06	8,8
14	2737	92	0,7	0,05	8,9	2931	15	0,8	0,06	8,4
15	2838	33	0,8	0,05	8,7	2955	95	0,9	0,06	8,4

FONTE: O Autor (2013).

A microalga apresentou maior produtividade em biomassa quando cultivada em meio suíno 5%, com máximo de $0,2 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ no 2º dia de cultivo. O experimento controle em meio CHU apresentou produtividade de $0,15 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Para o meio bovino e esgoto sanitário foram obtidos valores inferiores de produtividade, registrando-se $0,11 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ para o meio bovino e $0,07 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ para o meio esgoto sanitário.

Com relação ao comportamento do pH nos cultivos, percebe-se um aumento em todos os ensaios realizados. Elevações do pH podem ocorrer em função do metabolismo autotrófico das microalgas, onde a microalga consome o CO_2 proveniente da aeração de ar ambiente na fotossíntese (SHIRAIWA *et al.*, 1993).

Cada espécie de microalga possui uma faixa de pH ótimo para o crescimento, geralmente neutro ou em condições ligeiramente alcalinas, embora algumas espécies possam se desenvolver em pH 1,0 (RAVEN, 1990). Segundo Hodaifa *et al.* (2009), o pH ligeiramente alcalino (entre 8,0 e 8,5) é ótimo para o crescimento da microalga *Scenedesmus*.

Neste trabalho, mesmo com a elevação do pH a microalga demonstrou boa adaptação ao ambiente alcalino.

Vidyashankar *et al.* (2013) observaram a alta tolerância da microalga *Scenedesmus* para uma ampla gama de níveis de pH, indicando sua capacidade de adaptação às flutuações ambientais e sua adequação para o cultivo em larga escala e sequestro de CO_2 concomitante a produção de lipídeos.

Sugai (2013) demonstrou em seu trabalho que o aumento do pH em cultivos de microalgas favorece o consumo de CO_2 , de modo que o acúmulo de CO_2 dissolvido é menor em comparação a valores de pH menores.

A utilização de meios alternativos se mostra uma saída eficiente para diminuir os custos de produção de microalgas. Para a produção de 1000 litros de cultivo são gastos em torno de R\$ 28,02. Por outro lado, com a utilização de efluentes o custo com a formulação de meios de cultivo é mínimo, sendo o maior gasto com a logística e transporte desses resíduos até os locais de produção. Desta forma, a construção de sistemas de cultivo de microalgas próximos a locais que tenham esses resíduos disponíveis é a melhor forma de contornar este problema.

6.3 UTILIZAÇÃO DE BIOGÁS COMO FONTE DE DIÓXIDO DE CARBONO E PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS PELO CULTIVO AUTOTRÓFICO DE MICROALGAS.

6.3.1 Efeitos da utilização de biogás no cultivo de microalgas

O biogás utilizado nesse trabalho foi produzido pela biodigestão anaeróbica de resíduos suínos. Após a etapa de dessulfurização pelo processo de absorção química para reduzir o H_2S a uma concentração abaixo de 100 ppm, o biogás foi comprimido e posteriormente utilizado nos experimentos.

Para a realização dos ensaios o biogás foi misturado ao ar ambiente a fim de se atingir uma concentração de 10% de dióxido de carbono na mistura, e injetado nos cultivos a uma vazão de $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

A determinação da densidade celular, em intervalos de 24 horas permitiu estabelecer curvas de crescimento para cada ensaio realizado.

Na FIGURA 30 são apresentadas as curvas de crescimento celular do *mix de Scenedesmus disciformis* aerado com a mistura de biogás e ar ambiente em comparação ao cultivo utilizando apenas ar ambiente em diferentes meios de cultivos (suíno, bovino e esgoto sanitário). Os resultados ilustrados demonstram o melhor desempenho da microalga cultivada com injeção de CO_2 proveniente da mistura biogás/ar ambiente em comparação ao crescimento apenas com ar ambiente.

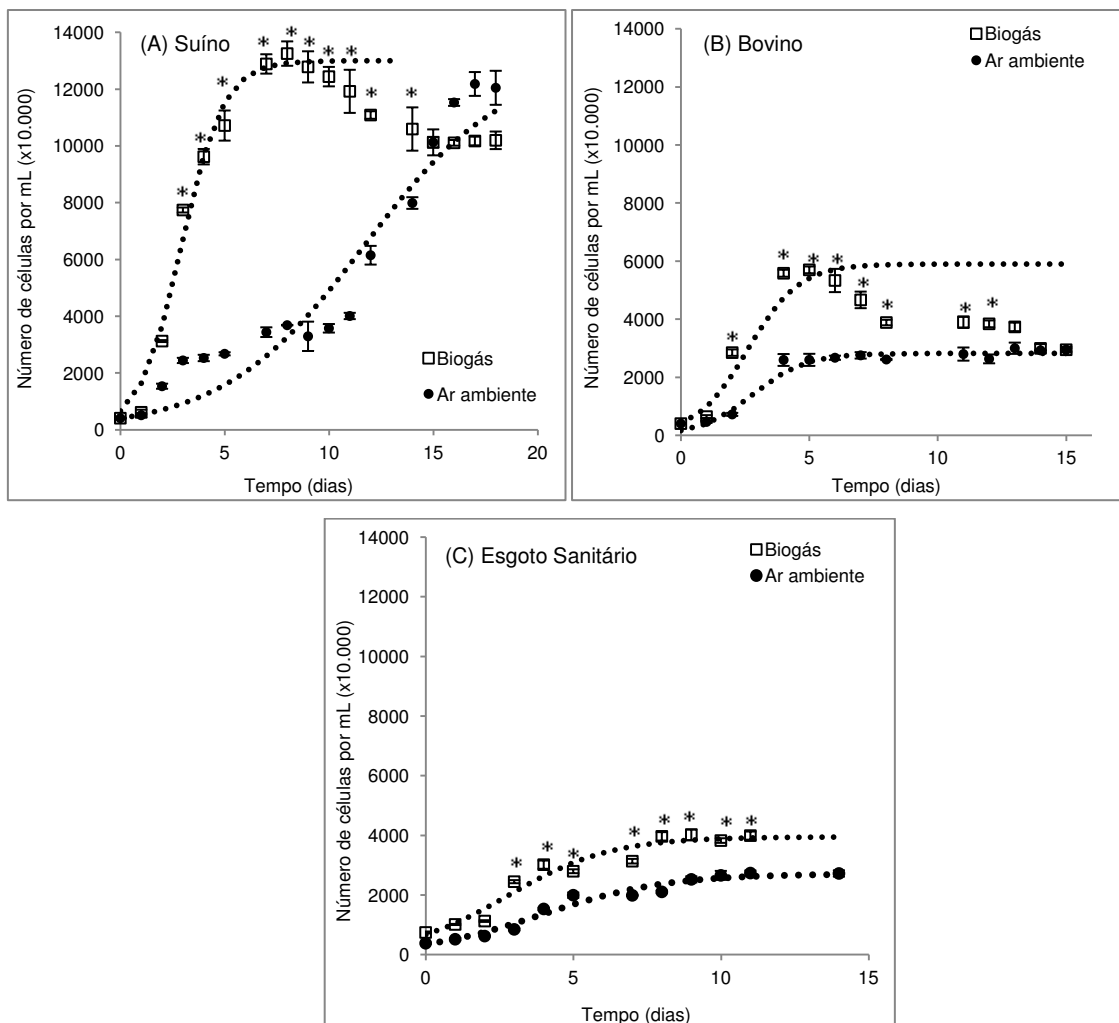


FIGURA 30 – COMPARAÇÃO DAS CURVAS DE CRESCIMENTO CELULAR DO MIX DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO UTILIZANDO AR AMBIENTE E BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO, MOSTRANDO OS AJUSTES DA EQUAÇÃO LOGÍSTICA (•••) AOS DADOS. (A) MEIO SUÍNO; (B) MEIO BOVINO; (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO.

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados em reator tipo *airlift* com volume útil de trabalho de 12 L, em condições ambientes sem controle de temperatura e luminosidade, vazão de ar/gás de 1 L.min⁻¹.

* apresenta diferença estatística com $p < 0,05$.

A fase exponencial de crescimento dos cultivos com suplementação de CO₂ proveniente do biogás se deu logo no início do cultivo (2º dia), demonstrando que a microalga cresceu melhor nessa condição em relação aos ensaios que utilizaram apenas ar ambiente. Igualmente aos resultados obtidos nos experimentos anteriores com ar ambiente, a microalga apresentou maior crescimento celular no meio suíno, seguido do meio bovino e por seguinte o meio esgoto sanitário.

O crescimento celular máximo alcançado nos cultivos aerados com

biogás foram de $13257 \pm 430 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ no 8º dia de cultivo no meio suíno, $5337 \pm 400 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ no 5º dia de cultivo no meio bovino e $4020 \pm 183 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$ no 09º dia de cultivo no meio esgoto sanitário.

Comparando os resultados com os controles que foram aerados somente com ar ambiente, percebe-se que a utilização do biogás como fonte extra de carbono interfere diretamente no crescimento da microalga. Tanto nos resultados de divisão celular quanto no aumento da biomassa, verificou-se que a fase inicial dos cultivos foi acelerada indicando a ótima adaptação da microalga às condições impostas e também a dependência do crescimento frente ao CO_2 disponível.

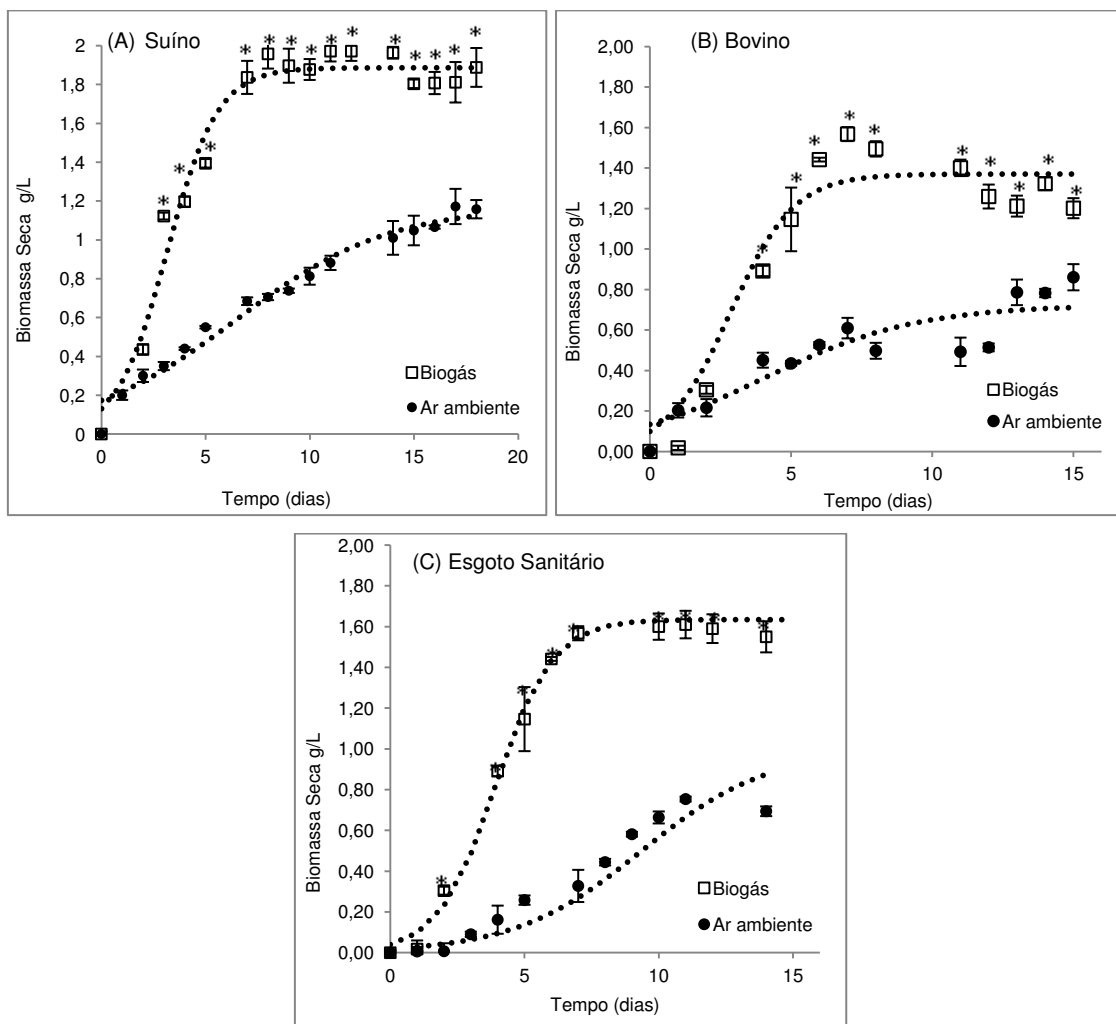


FIGURA 31 – COMPARAÇÃO DAS CURVAS DE BIOMASSA SECA DO *MIX* DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO UTILIZANDO AR AMBIENTE E BIOGÁS COMO FONTE DE CARBONO, MOSTRANDO OS AJUSTES DA EQUAÇÃO LOGÍSTICA (•••) AOS DADOS. (A) MEIO SUÍNO; (B) MEIO BOVINO; (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO.

FONTE: O autor (2013)

NOTA: As barras de erro representam duas vezes o desvio padrão. Experimentos realizados em reator tipo *airlift* com volume útil de trabalho de 12 L, em condições ambientes sem controle de temperatura e luminosidade, aeração de 1 L.min⁻¹ com ar ambiente.

* apresenta diferença estatística com $p < 0,05$.

A maior concentração de biomassa alcançada foi obtida no meio suíno aerado com biogás, com concentração máxima de $2,0 \pm 0,16$ g.L⁻¹ ao 8º dia de experimento, seguido pelo meio esgoto sanitário que alcançou $1,6 \pm 0,17$ g.L⁻¹ no 10º dia e pelo meio bovino com $1,6 \pm 0,22$ g.L⁻¹ no 7º dia de cultivo, ambos aerados com biogás, FIGURA 31.

A suplementação de uma fonte de carbono no sistema aumentou de forma relevante a produtividade em biomassa dos cultivos, demonstrando que a utilização de biogás como fonte de carbono é eficiente.

Segundo Mata *et al.* (2010) cerca de 50% da biomassa seca das microalgas é composta por carbono, e na maioria dos casos, todo este carbono é obtido a partir do dióxido de carbono. A assimilação do CO₂ realiza-se através do Ciclo de Calvin no processo da fotossíntese, compreendendo várias reações levando no final à produção de carboidratos (CH₂O)_n. O ciclo de Calvin é a via metabólica primária responsável pela redução de carbono. A cada ciclo de Calvin completo são produzidos carboidratos, ácidos graxos, aminoácidos e ácidos orgânicos sintetizados na fixação fotossintética de CO₂ (RICHOMD, 2010).

O cultivo em larga escala de microalgas em fotobiorreatores se apresenta bastante promissor, principalmente com a utilização de CO₂ uma vez que se observam ótimas condições de produtividade de biomassa. Em trabalho semelhante, Jiang *et al.* (2011) utilizando efluente esgoto sanitário como meio de cultivo somada a utilização de CO₂ observou um aumento de 0,71 para 2,23 g.L⁻¹ em um período de 12 dias na produção da microalga *Nannochloropsis* sp.

O desempenho dos fotobiorreatores no sequestro de CO₂ é dependente das espécies de microalgas utilizadas, do formato do sistema, da concentração de entrada de CO₂ e das condições ambientais como temperatura e intensidade da luz. Assim sendo, a microalga *Scenedesmus disciformis* mostrou grande potencial na capacidade de fixação de CO₂.

As TABELAS 14, 15 e 16 resumem os resultados diários de densidade celular, biomassa seca, produtividade e pH.

TABELA 14 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO SUÍNO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Meio Suíno (Biogás)					Meio Suíno (Ar ambiente)				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	413	16	0,0	0,00	7,8	413	16	0,0	0,0	7,8
1	621	91	---	0,00	8,5	517	71	0,2	0,2	8,4
2	3129	34	0,4	0,22	8,9	1539	90	0,3	0,15	8,9
3	7747	87	1,1	0,37	9,0	2447	91	0,4	0,12	9,6
4	9625	272	1,2	0,30	8,9	2534	112	0,4	0,11	9,3
5	10722	530	1,4	0,28	9,0	2681	55	0,6	0,11	9,1
7	12892	341	1,8	0,26	8,9	3443	170	0,7	0,10	8,9
8	13257	430	2,0	0,24	9,2	3689	11	0,7	0,09	9,1
9	12788	549	1,9	0,21	9,1	3297	517	0,7	0,08	9,1
10	12445	343	1,9	0,19	9,2	3580	150	0,8	0,08	9,4
11	11927	759	2,0	0,18	9,2	4014	110	0,9	0,08	9,0
12	11092	133	2,0	0,16	9,1	6153	330	---	---	9,2
14	10599	763	2,0	0,14	9,1	7993	206	1,0	0,07	9,1
15	10130	457	1,8	0,12	9,0	10134	189	1,1	0,07	9,3
16	10113	100	1,8	0,11	9,0	11533	119	1,1	0,07	9,1
17	10177	152	1,8	0,11	9,1	12187	420	1,2	0,07	9,1
18	10202	309	1,9	0,10	9,2	12051	599	1,2	0,06	7,8

FONTE: O Autor (2013).

TABELA 15 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO BOVINO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Meio Bovino (Biogás)					Meio Bovino (Ar Ambiente)				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	408	17	0,0	0,00	8,0	408	0	0,0	0	8,0
1	649	50	0,0	0,02	8,7	466	37	0,2	0,2	8,7
2	2852	111	0,3	0,15	8,5	724	52	0,2	0,11	8,5
4	5587	120	0,9	0,22	9,5	2600	205	0,5	0,11	9,2
5	5704	116	1,2	0,23	9,3	2603	208	0,4	0,09	9,4
6	5337	400	1,4	0,24	9,3	2676	72	0,5	0,09	9,9
7	4669	285	1,6	0,22	9,3	2759	111	0,6	0,09	10,2
8	3889	95	1,5	0,19	8,2	2617	22	0,5	0,06	8,5
11	3901	199	1,4	0,13	8,0	2803	227	0,5	0,04	8,5
12	3844	117	1,3	0,10	8,1	2636	253	0,5	0,04	8,3
13	3739	146	1,2	0,09	8,3	3003	194	0,8	0,06	8,1
14	2998	148	1,3	0,09	8,3	2931	15	0,8	0,06	8,8
15	2952	51	1,2	0,08	8,3	2955	95	0,9	0,06	8,4

FONTE: O Autor (2013).

TABELA 16 – RESULTADOS DE DENSIDADE CELULAR, BIOMASSA SECA, PRODUTIVIDADE E pH DO CULTIVO EM MEIO ESGOTO SANITÁRIO COM INJEÇÃO DE BIOGÁS E AR AMBIENTE. Obs: em negrito os maiores valores para cada parâmetro analisado.

Tempo (dias)	Esgoto Sanitário (Biogás)					Meio Esgoto Sanitário (Ar ambiente)				
	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH	Número de células (Cél.mL ⁻¹ * 10 ⁴)	Desvio Padrão	Biomassa Seca (g.L ⁻¹)	Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	pH
0	748	33	0,0	0,06	8,1	386	31	0,0	0	9,3
1	1016	19	0,1	0,04	8,9	520	43	0,0	0,01	9,1
2	1130	28	0,1	0,14	9,0	626	9	0,0	0,00	9,2
3	2450	52	0,4	0,18	9,0	851	40	0,1	0,03	9,5
4	3020	137	0,7	0,23	9,1	1536	41	0,2	0,04	9,5
5	2800	65	1,2	0,18	9,2	1997	90	0,3	0,05	10,0
7	3137	78	1,2	0,16	9,4	1991	14	0,3	0,05	10,2
8	3970	141	1,3	0,17	9,7	2108	48	0,4	0,06	9,5
9	4020	183	1,5	0,16	8,9	2527	103	0,6	0,06	8,9
10	3828	77	1,6	0,17	9,7	2661	150	0,7	0,07	10,6
11	3995	136	1,6	0,15	10,7	2739	85	0,8	0,07	9,3
14	3260	346	1,6	0,02	9,1	2725	105	0,7	0,05	9,2

FONTE: O Autor (2013).

O pH das culturas estudadas apresentaram um valor médio inicial de 7,5 – 8,0. Ao longo do desenvolvimento dos cultivos verificou-se a elevação do valor do pH para todos os ensaios realizados.

Diversos processos estão envolvidos na remoção de dióxido de carbono da fase líquida do sistema. Devido à elevada solubilidades do gás carbônico em soluções aquosas vários equilíbrios são estabelecidos. O carbono inorgânico pode estar na forma de CO_2 , H_2CO_3 (ácido carbônico) HCO_3^- (bicarbonato) OU CO_3^{2-} (carbonato). Conforme o aumento do pH as proporções de bicarbonato e carbonato aumentam no meio de cultura (RORRER E MULLIKIN, 1999).

A elevação do pH em função do tempo acompanhou o aumento da densidade celular e da biomassa celular nos cultivos. Segundo Lee *et al.* (2006) a elevação do pH em cultivos fotossintéticos é um forte indicador do alto consumo de carbono inorgânico devido ao crescimento celular.

6.3.2 Purificação de biogás por microalgas

Os resultados obtidos demonstram a capacidade de purificação do biogás pelas culturas de microalgas em fotobiorreator *airlift*. A concentração de CH_4 presente no biogás aumentou após 5 minutos de injeção do gás em todos os experimentos realizados, se estendendo por 30 minutos até a saturação do sistema. Foram detectadas reduções de CO_2 e uma proporção mais elevada de metano no biogás após sua passagem pelo fotobiorreator FIGURA 32.

Os resultados da remoção de dióxido de carbono demonstram a eficiência na remoção de CO_2 no sistema num período de 30 minutos, ocorrendo a redução na capacidade de eliminação de carbono inorgânico após esse tempo. Observou-se também que a saturação de CO_2 no meio de esgoto sanitário foi mais acelerada quando comparada com os meios suíno e bovino, possivelmente, este comportamento se deve a maior concentração de dióxido de carbono presente no biogás utilizado no experimento.

A eficiência de absorção de CO_2 pelo cultivo de microalgas está diretamente ligada a concentração dos componentes do biogás e a vazão de

entrada do gás na coluna ascendente do fotobiorreator *airlift*. Uma forma de aumentar a eficiência de absorção do dióxido de carbono seria a diminuição da vazão de entrada do gás, aumentando o tempo de retenção do biogás no interior do sistema. Contudo, o presente fotobiorreator *airlift* necessita de uma vazão de gás mínima para ter uma boa circulação. Como descrito na seção 6.1.1 a vazão de 1 L.min⁻¹ se mostrou a mais eficiente para alcançar os requisitos de circulação e mistura no reator. Nesse sentido, o aumento da escala se apresenta como saída para se atingir níveis maiores de purificação e de tempo de operação.

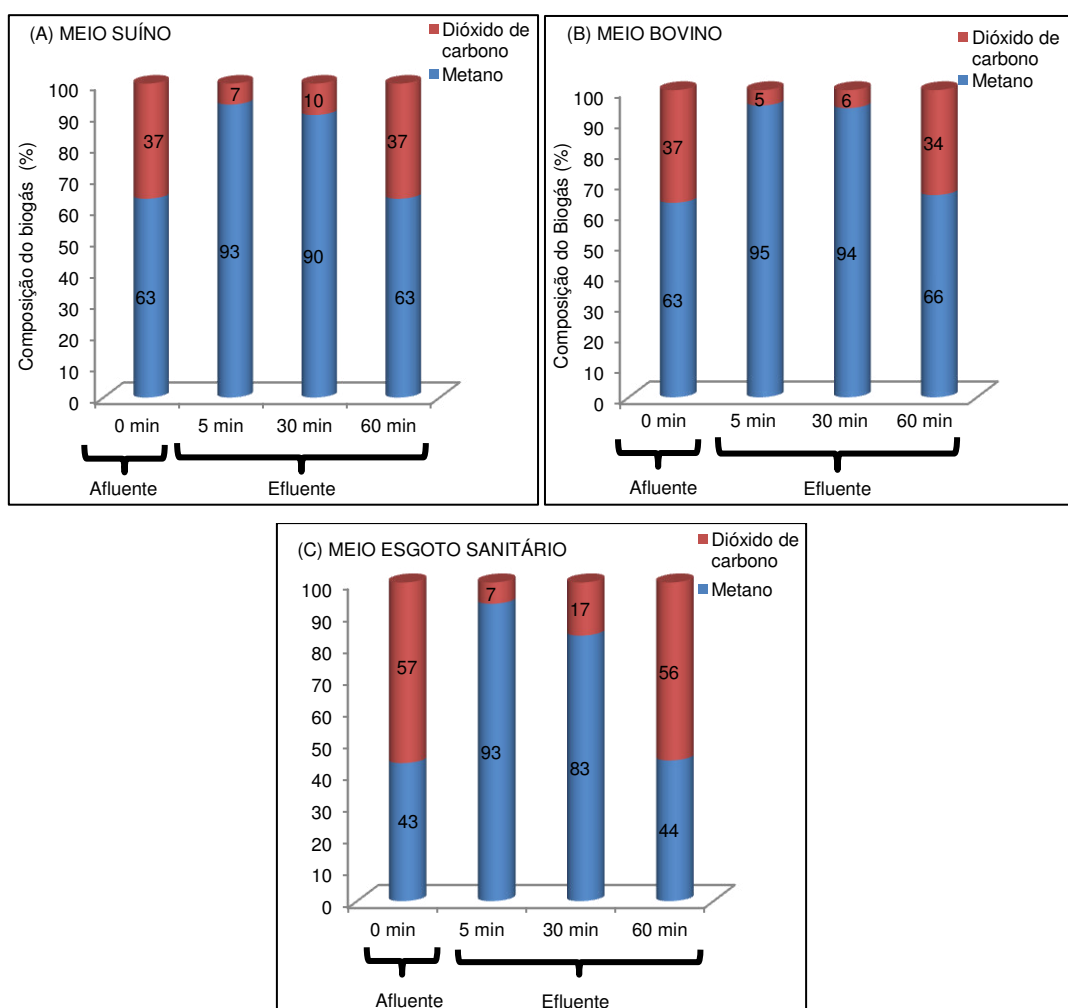


FIGURA 32 – PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS EM CULTIVO FOTOAUTOTRÓFICO DE MICROALGAS. (A) MEIO SUÍNO, (B) MEIO BOVINO (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO. VAZÃO 1 L.min⁻¹ DE BIOGÁS 100%.

FONTE: O autor (2013)

NOTA: Todos os ensaios foram realizados no 7º dia de experimento em reator tipo *airlift* com volume útil de trabalho de 12 L, em condições ambientes sem controle de temperatura e luminosidade.

Como demonstrado na revisão bibliográfica, diferentes métodos são aplicados com a finalidade de purificar o biogás. Dentre os métodos citados, a absorção por lavagem de gás (ITEM 2.2.1.2) é o que mais se assemelha ao processo realizado neste trabalho, pois utiliza a água como um absorvente do CO₂ que é descartado após o processo de purificação. Nesse trabalho, o sistema biológico de purificação de biogás tem como foco a fixação instantânea do CO₂. Para ter a confirmação do consumo de CO₂ pelas microalgas nos ensaios realizados, foram feitas medições do pH a cada 10 minutos após o processo de purificação, FIGURA 33.

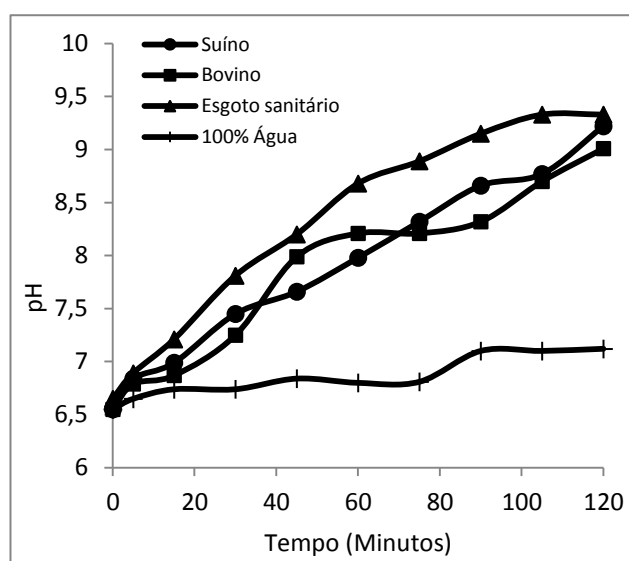


FIGURA 33 – COMPARAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO pH APÓS A PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS POR CULTIVO DE MICROALGAS EM DIFERENTES MEIOS: (—●—) MEIO SUÍNO, (—■—) MEIO BOVINO, (—▲—) MEIO ESGOTO SANITÁRIO; (—) 100% ÁGUA.

AERAÇÃO DE 100% AR AMBIENTE E VAZÃO DE 1 L.min⁻¹

FONTE: O autor (2013)

A FIGURA 33 apresenta o comportamento do pH após a purificação do biogás nos cultivos com microalgas em comparação à utilização apenas de água como absorvente. Nesta etapa os cultivos foram aerados com 100% de ar ambiente. De acordo com os resultados, percebe-se o aumento do pH durante 120 minutos nos cultivos com microalgas, alcançando o pH ± 9,0 depois deste período. Por outro lado, na ausência de microalgas no sistema o pH não apresentou alteração. A recuperação do pH após a purificação se deve ao fato

de que o CO₂ dissolvido no cultivo foi utilizado pelas células de microalgas para o crescimento por meio da fotossíntese.

As microalgas assimilam o carbono inorgânico na forma de CO₂ e HCO₃⁻ através do mecanismo de concentração de carbono (Wang *et al.*, 2011). Os mecanismos pelos quais as microalgas assimilam carbono inorgânico variam com base nas espécies, e cada microalga tem um ou mais mecanismos de assimilação (Raven *et al.*, 2005). Tais mecanismos são os principais responsáveis pela redução dos níveis de CO₂ na atmosfera e aumento de O₂ (Giordano *et al.*, 2005).

O pH é um componente importante do sistema e tem uma influência direta sobre as formas de carbono inorgânico disponíveis para as microalgas. O controle do pH é conseguido pela regulação do balanço dos íons H⁺. A concentração de H⁺ é determinada pela relação da concentração de bicarbonato (HCO₃⁻) e CO₂, que é o principal tampão de pH do meio extracelular. Assim, a concentração de H⁺ no meio aumenta ou diminui devido ao aumento ou diminuição da concentração de CO₂, e pela diminuição ou aumento da concentração de HCO₃⁻.

A equação de Henderson-Hasselbach (8) é uma expressão matemática que relaciona quantitativamente o valor do pH, a ação tamponante da mistura do ácido fraco com sua base conjugada e o pKa do ácido fraco. Através dessa equação, é possível relacionar pH, pKa e as concentrações do ácido e de sua base conjugada.

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log_{10} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (8)$$

Em que:

pH= potencial hidrogeniônico

pKa= constante de equilíbrio

A⁻= espécie básica

HÁ= espécie ácida

A partir da equação 8 pode ser derivada uma equação para o cálculo da

% de ácido carbônico (H_2CO_3) em relação a concentração de bicarbonato HCO_3^- . A equação 9 fica sendo:

$$[\text{H}_2\text{CO}_3]\% = \frac{1}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_{\text{aCO}_2})}} \quad (9)$$

Os valores percentuais de H_2CO_3 dissolvidos no meio foram calculados a partir da medição de pH. Para a utilização da equação a concentração de HCO_3^- foi considerada constante em 100%.

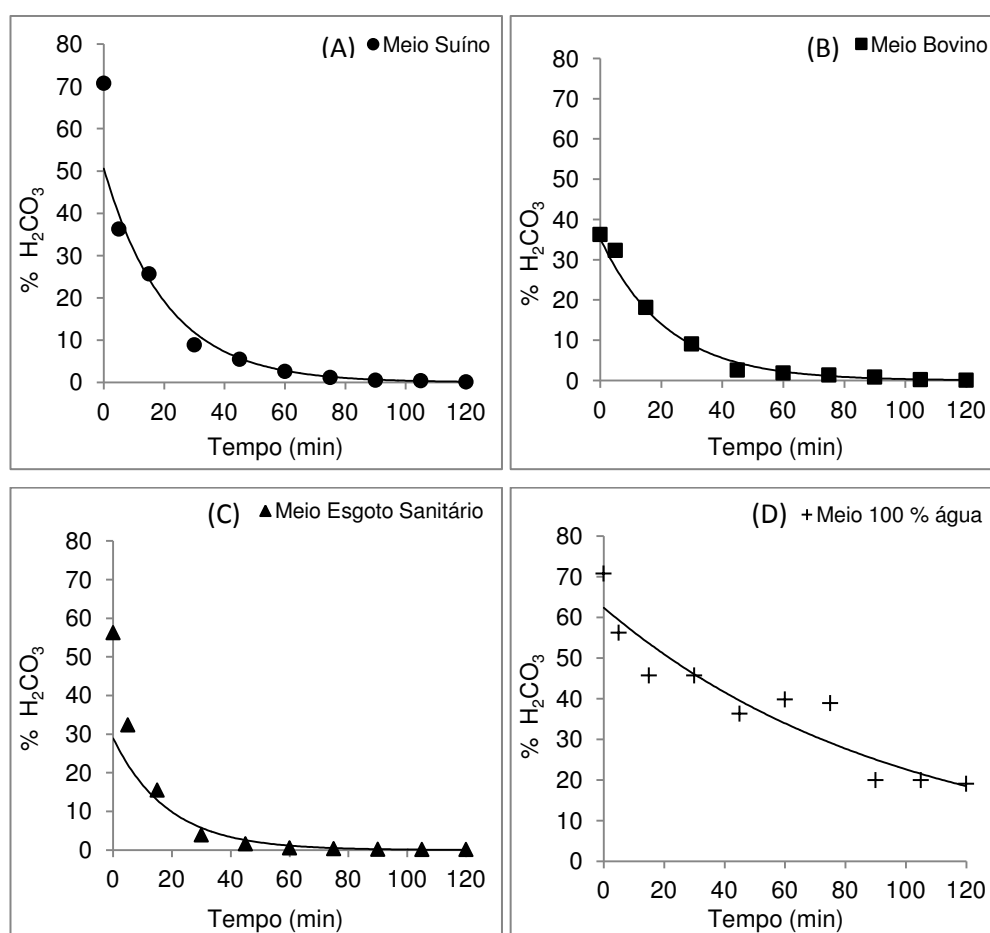


FIGURA 34 – CONCENTRAÇÃO DE H_2CO_3 PRESENTE NOS MEIOS APÓS O TÉRMICO DA PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS. (A) MEIO SUÍNO; (B) MEIO BOVINO; (C) MEIO ESGOTO SANITÁRIO; (D) MEIO 100% ÁGUA.

FONTE: O autor (2013)

A FIGURA 34 apresenta a porcentagem de H_2CO_3 presente no meio após o térmico da purificação de biogás nos três meios testados e no ensaio

utilizando 100% água. A fixação de CO₂ foi determinada indiretamente utilizando os valores de H₂CO₃.

A redução de H₂CO₃ nos cultivos está diretamente ligada ao consumo de CO₂ por parte das microalgas. De acordo com os resultados, percebe-se que após 30 minutos a concentração de H₂CO₃ chega a níveis muito baixos em todos os ensaios com exceção da água.

A capacidade de purificação de biogás do sistema foi em média de 30 litros de biogás durante os primeiros 30 minutos. Observando a FIGURA 34 verifica-se que foram necessários 30 minutos para que as microalgas consumissem grande parte do CO₂ dissolvido no cultivo, indicando a necessidade de 60 minutos para a realização de cada ciclo de purificação. Diante desses resultados, é possível realizar durante o período luminoso do dia 08 ciclos de 60 minutos de purificação de biogás, totalizando 240 litros de biogás purificado diariamente pelo sistema.

Atualmente, o NPDEAS possui 03 fotobiorreatores com capacidade para 10 m³ de cultivo. Com o volume de operação de cada fotobiorreator é possível realizar a purificação de 240 m³ de biogás por dia.

Os resultados indicados na TABELA 17 apresentam as características do biogás antes e depois da purificação com cultivos de microalgas.

TABELA 17 – CARACTERÍSTICAS DO BIOGÁS ANTES E DEPOIS DA PURIFICAÇÃO

Meio de cultura utilizado	Efluente suíno			Efluente bovino			Efluente esgoto sanitário		
	5 min	30 min	60 min	5 min	30 min	60min	5 min	30 min	60 min
Tempo de purificação									
% (v/v) Afluente de CO ₂	37 ± 3	37 ± 3	37 ± 3	37 ± 1,4	37 ± 1,4	37 ± 1,4	43 ± 1,4	43 ± 1,4	43 ± 1,4
% (v/v) Efluente de CO ₂	7 ± 3	10 ± 5	37 ± 3	5	6 ± 1,4	34 ± 1,4	7 ± 1,4	17 ± 2,9	56 ± 1,4
% Eficiência de remoção de CO ₂	82	77	9	86	84	7	88	71	1
% (v/v) Afluente de CH ₄	63 ± 3	63 ± 3	63 ± 3	63 ± 1,4	63 ± 1,4	63 ± 1,4	57 ± 1,4	57 ± 1,4	57 ± 1,4
% (v/v) Efluente de CH ₄	93 ± 3	90 ± 5	63 ± 3	95	94 ± 1,4	66 ± 1,4	93 ± 1,4	83 ± 2,9	44 ± 1,4
% Eficiência de enriquecimento de CH ₄	82	77	9	86	84	7	88	71	1
Poder calorífico do biogás "in natura" (kcal.m ⁻³)	5775	5775	5775	5775	5775	5775	5225	5225	5225
Poder calorífico do biogás purificado (kcal.m ⁻³)	8525	8250	5775	8708	8616	6050	8525	7608	4033
Ácido sulfídrico (ppm)	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100

FONTE: O autor (2013)

Segundo NOGUEIRA (1986), o poder calorífico do biogás é dependente da concentração de metano no gás. Frequentemente o poder calorífico para o biogás com 60% (v/v) de metano é de $5.500 \text{ kcal.m}^{-3}$. Entretanto, após os processos de purificação o valor pode se aproximar ao do metano puro, ou seja, $9.000 \text{ kcal.m}^{-3}$.

O poder calorífico do biogás foi estimado tendo em conta a percentagem de metano existente no biogás. Em se tratando do poder calorífico, o biogás "*in natura*" apresentou uma concentração média de 61% (v/v) de CH_4 com poder calorífico de 5592 kcal.m^{-3} , enquanto o biogás purificado apresentou uma concentração média de 91% (v/v) de CH_4 com poder calorífico de 8372 kcal.m^{-3} . Observou-se um aumento médio do poder calorífico de $2.780 \text{ kcal.m}^{-3}$, o que representa um aumento de aproximadamente 33% no poder calorífico do biogás após purificação com cultivos de microalgas, aproximando-se do poder calorífico do metano puro.

Segundo a ANP (Agência Nacional do Petróleo) na Portaria 128, de 28 de agosto de 2001, a presença de CO_2 no biogás reduz o seu poder calorífico e a combustão no caso do uso veicular. Além disso, o dióxido de carbono tem ação corrosiva quando na presença de água. De acordo com a norma, a percentagem mínima de metano no gás natural deve ser de 68% (v/v) com poder calorífico de 8741 kcal.m^{-3} para a região norte e 86% (v/v) para as demais regiões (Nordeste, Sul, Sudeste, Centro-Oeste). Concentrações de CO_2 podem chegar ao máximo a 18% para a região norte, 5% para o Nordeste e 4% para as demais regiões (Sul, Sudeste e Centro-Oeste). As diferenças de concentração entre as regiões se devem ao fato de que o gás natural da região norte não se destina a utilização em veículos, caso a destinação seja para uso em veículos, a norma deve seguir as demais regiões (ANP 2002).

Ficou evidenciado que o sistema utilizado para purificação de biogás foi capaz de capturar o CO_2 presente no biogás, alcançando elevado nível no desempenho de purificação do biogás. Desta forma, o biogás purificado pode ser utilizado em motores de maneira eficiente.

6.4 QUANTIFICAÇÃO DE LIPÍDEOS TOTAIS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA BIOMASSA DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Para a quantificação de lipídeos totais produzidos ao final do experimento pelas microalgas optou-se pela utilização da metodologia de extração de óleos desenvolvida por Bligh e Dyer (1959), descrita na seção 5.6.4.

A TABELA 18 apresenta os resultados de produtividade de lipídeos totais em função do volume dos cultivos. Ao analisar os valores de produtividade lipídica obtidos em grama por litro de cultivo, verifica-se que a adição de biogás também apresentou vantagem em relação aos cultivos realizados apenas com ar ambiente.

TABELA 18 - RENDIMENTOS DE PRODUTIVIDADE DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO

MEIO DE CULTIVO	BIOMASSA SECA (g.L ⁻¹)	LIPÍDEOS TOTAIS (%)	LIPÍDEOS TOTAIS (g.L ⁻¹ de cultivo)
Meio CHU (Ar ambiente)	1,1	23 ± 0,3	0,3
Efluente suíno (Ar ambiente)	1,2	18 ± 0,4	0,2
Efluente suíno (Biogás)	2	26 ± 1,6	0,6
Efluente bovino (Ar ambiente)	0,6	15,5 ± 1,3	0,1
Efluente bovino (Biogás)	1,6	23 ± 0,1	0,4
Esgoto sanitário (Ar ambiente)	0,8	10 ± 0,5	0,08
Esgoto sanitário (Biogás)	1,6	9 ± 0,6	0,13

FONTE: O autor (2013)

Percebe-se que os cultivos em efluentes com adição de biogás apresentaram teor de lipídeos superior aos meios cultivados apenas com ar ambiente. A concentração de lipídeos totais ao final do experimento foi de 26% ± 1,6 para o meio suíno, 23 ± 0,1 para o meio bovino e 10% ± 0,08 para o meio esgoto sanitário, todos cultivados com injeção de biogás.

A adição de biogás nos cultivos influenciou no conteúdo lipídico aumentando o teor de lipídeos totais por litro de cultivo para todos os meios testados. O meio suíno apresentou um aumento de 3 vezes quando comparado ao controle com ar ambiente. Já os meios bovino e esgoto sanitário aumentaram cerca de 4 e 1,5 vezes, respectivamente.

O cultivo de microalgas com injeção de biogás apresentou maior quantidade de biomassa e por consequência maior teor em lipídeos por litro de cultivo. Desta forma, a microalga estudada pode contribuir na redução da emissão de gases poluentes paralelamente com a produção de lipídeos.

6.5 BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES

Os resultados experimentais obtidos confirmam que a espécie de microalga *Scenedesmus disciformis* pode contribuir ao processo de biorremediação de efluentes. Além disso, os rendimentos de biomassa e números de células foram muito superiores ao meio sintético escolhido.

Os valores médios da concentração de Fósforo, Nitrato (NO_3^-), Nitrito (NO_2^-) e Nitrogênio amoniacal (NH_3^-) no início e no final dos experimentos com a microalga *Scenedesmus disciformis* estão representados na TABELA 19. Para a determinação da biorremediação foi escolhido o cultivo em meio suíno com injeção de biogás, o qual apresentou maior produtividade em biomassa.

TABELA 19 – BIORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTE SUÍNO APÓS A SEPARAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS

NUTRIENTES	EFLUENTE SUÍNO 5% + Biogás (mg.L^{-1})		
	QUANTIDADE INICIAL	QUANTIDADE APÓS O CULTIVO	REMOÇÃO DE NUTRIENTES (%)
Fósforo	5	<0,04	99,2
Nitrato (NO_3^-)	<0,125	0,19	---
Nitrito (NO_2^-)	<0,025	<0,01	60
Nitrogênio amoniacal (NH_3)	144	<1,00	99,3

FONTE: O autor (2013)

Com a aplicação da biorremediação utilizando a microalga *Scenedesmus disciformis*, pode-se observar uma eficiente remoção de nutrientes do efluente, chegando a 99,3% (143 mg.L^{-1}) de NH_3 ; 99,2% ($4,96 \text{ mg.L}^{-1}$) de Fósforo; 60% ($0,015 \text{ mg.L}^{-1}$) de NO_2^- . Assim, a utilização deste processo se mostrou eficiente no processo para amenizar a poluição causada no ambiente pelo efluente, se enquadrando aos padrões requeridos pela

Resolução CONAMA nº 430/2011 que complementa a Resolução CONAMA nº 357/2005.

Taher (2013) em experimento semelhante utilizando meio suíno diluído a 10% obteve resultados semelhantes, chegando a reduções de nutrientes na faixa de 82 - 99,6%.

Além da concentração de nutrientes, avaliou-se a redução da DBO e DQO do efluente após a recuperação das microalgas ao final do cultivo. De acordo com os resultados, houve uma redução de 96% da DBO (628 mg.L^{-1} para $23,3 \text{ mg.L}^{-1}$) e 91% da DQO (1262 mg.L^{-1} para 132 mg.L^{-1}), conforme ANEXO 1 e 2.

A FIGURA 35 apresenta o aspecto da turbidez do efluente antes e depois do cultivo com microalgas. Percebe-se claramente uma grande redução na turbidez indicando a eficiência do processo de tratamento de efluentes com as microalgas.

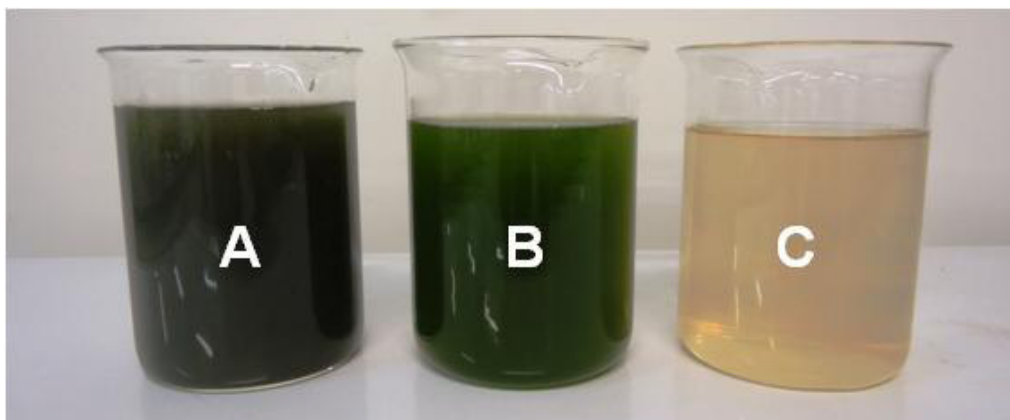


FIGURA 35 - ASPECTO DA TURBIDEZ DO EFLUENTE ANTES E DEPOIS DO CULTIVO COM MICROALGAS. (A) EFLUENTE SUÍNO + MICROALGAS (B) CULTIVO DE MICROALGAS 15 DIAS (C) EFLUENTE FINAL APÓS RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS DO CULTIVO

FONTE: O autor (2013)

7 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados, o sistema biológico utilizando a microalga *Scenedesmus disciformis* foi capaz de purificar o biogás. O biogás purificado apresentou uma concentração média de 91% (v/v) de CH₄ com poder calorífico de 8372 kcal.m⁻³.

Os ensaios realizados com injeção de biogás apresentaram os resultados mais satisfatórios em relação a densidade celular, biomassa seca, e produtividade. O crescimento celular máximo alcançado nos cultivos com injeção de biogás foi de $13257 \pm 430 \times 10^4$ cél.mL⁻¹ no 8º dia de cultivo no meio suíno. A maior concentração de biomassa alcançada foi obtida no meio suíno com suplementação de dióxido de carbono, com concentração máxima de $2,0 \pm 0,16$ g.L⁻¹ ao 11º dia de experimento. Os resultados indicam que a utilização do biogás como fonte extra de carbono interfere diretamente no crescimento da microalga, aumentando o crescimento celular e a produtividade de biomassa.

A utilização de meios alternativos como fonte de nutrientes para produção de microalgas também se mostrou eficiente. Todos os cultivos com efluente apresentaram maior rendimento de biomassa e crescimento celular quando comparados ao meio sintético, podendo ser destacado o meio suíno como mais eficiente.

Pode-se observar eficiente remoção de nutrientes do efluente suíno por parte da microalga *Scenedesmus disciformis*, chegando a remover 99,3% de NH₃; 99,2% de Fósforo e 60% de NO₂⁻. A utilização deste processo possibilita amenizar a poluição causada no ambiente pelo efluente, se enquadrando aos padrões requeridos pela Resolução CONAMA nº 430/2011.

A utilização de fotobiorreatores tubulares *airlifts* para produção de microalgas é bastante promissora, visto que tais sistemas fornecem ótimas condições de cultivo para os organismos. Como fruto deste trabalho destaca-se o depósito da patente “Fotobiorreator tubular para tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões” (BR 10 2013 026395 8) (ANEXO 5).

7.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Muitos avanços na produção de microalgas e purificação de biogás são necessários. Para a continuação deste trabalho apresentam-se as seguintes sugestões:

1. Caracterização completa dos parâmetros hidrodinâmicos fotobiorreator *airlift* (Velocidade superficial do gás; Retenção gasosa; Velocidade do líquido; Regimes de circulação; Velocidade de cisalhamento; Diâmetro de bolhas);
2. Escalonamento da purificação de biogás para fotobiorreatores de 10 m³ do NPDEAS;
3. Exploração de subprodutos de interesse, como pigmentos e proteínas das microalgas;
4. Realizar estudos de maximização da produção de lipídeos e produção de biodiesel em escala;
5. Testar o CO₂ proveniente dos processos de combustão como fonte de carbono, a fim de diminuir custos nos cultivos;
6. Avaliar o perfil de ácidos graxos da microalga *Scenedesmus disciformis*
7. Estudar o cultivo semicontínuo das microalgas em condições não controladas e em regime heterotrófico.

REFERÊNCIAS

- ABATZOGLOU, N.; BOIVIN, S. A review of biogas purification processes. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 3, n. 1, p. 42-71, 2009.
- ACIEN F. G.; HALL, D. O.; CANIZARES G., E.; KRISHNA R.; MOLINA G. E. Outdoor production of *Phaeodactylum tricornutum* biomass in a helical reactor. **Journal of biotechnology**, v. 103, n. 2, p. 137-152, 2003.
- 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.
- AJHAR, M.; TRAVESSET, M.; YUCE, S.; Melin, T. Siloxane removal from landfill and digester gas—A technology overview. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 9, p. 2913-2923, 2010.
- 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>. Acesso em: 13/12/13.
- ANUNPUTTIKUL, W.; RODTONG, S. Laboratory scale experiments for biogas production from cassava tubers. In: **The Joint International Conference on “Sustainable Energy and Environment (SEE)”**, Hua Hin, Thailand. 2004.
- ASLAN, S.; KAPDAN, I. K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**, v. 28, n. 1, p. 64-70, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*)**. Rio de Janeiro, 2004.
- ATABANI, A. E.; SILITONGA, A. S.; BADRUDDIN, I. A.; MAHLIA, T. M. I.; MASJUKI, H. H.; MEKHILEF, S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 2070-2093, 2012.
- 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.
- BAKER, R. W.; LOKHANDWALA, K. Natural gas processing with membranes: an overview. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 7, p. 2109-2121, 2008.

BALAT, M. Potential alternatives to edible oils for biodiesel production—A review of current work. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 1479-1492, 2011.

BANOS, R.; MANZANO-AGUGLIARO, F.; MONTOYA, F. G.; Gil, C.; ALCAYDE, A.; GÓMEZ, J. Optimization methods applied to renewable and sustainable energy: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15(4), p. 1753-1766, 2011.

BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Cambridge University Press, 1994.

BELAY, A. M. H. A. Mass culture of *Spirulina* outdoors: the Earthrise Farms experience. **Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology**. London, Taylor and Francis, p. 131-158, 1997.

BHATTACHARYA, T. K.; MISHRA TN, SINGH B. Techniques for removal of CO₂ and H₂S from biogas. **XXIV annual convention of ISAE**, held at PKV, Akola, 1988.

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

BONINI, M.; BASTOS, R. G. Produção de biomassa de *Aphanothece microscopica* e *Chlorella vulgaris* por cultivo heterotrófico a partir de Glicose. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 151-160, 2013.

BOROWITZKA M. A. Culturing microalgae in outdoor ponds. In: Anderson RA (ed) Algal culturing techniques. **Elsevier Academic**, London, pp 205–218, 2005.

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.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 92, p. 89, 16 mai. 2011.

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**, 14(2), 557-577, 2010.

BURLEW, J. S. Algal culture from laboratory to pilot plant. **Algal culture from laboratory to pilot plant.**, 1953.

CARBALLO-CÁRDENAS, E. C.; TUAN, P. M.; JANSSEN, M.; WIJFFELS, R. H. Vitamin E (α -tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. **Biomolecular engineering**, v. 20, n. 4, p. 139-147, 2003.

CARVALHO, A. P.; MALCATA, F. X. Optimization of ω -3 fatty acid production by microalgae: crossover effects of CO₂ and light intensity under batch and continuous cultivation modes. **Marine Biotechnology**, v. 7, n. 4, p. 381-388, 2005.

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.

CHAPMAN, V.; CHAPMAN, D. J. **The algae**. 1973.

CIFERRI, O. *Spirulina*, the edible microorganism. **Microbiological reviews**, v. 47, n. 4, p. 551, 1983.

CHISTI, Y. Airlift bioreactors. Belfast, Northern Ireland, **Elsevier Science Publishers Ltd**. 1989.

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

CHISTI, Y.; HAZA, U. J. Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, v. 10, n. 2, p. 143-153, 2002.

CHMIELEWSKI, A. G.; URBANIAK, A.; WAWRYNIUK, K. Membrane enrichment of biogas from two-stage pilot plant using agricultural waste as a substrate. **Biomass and Bioenergy**, v. 58, p. 219-228, 2013.

CHO, K.; RYU, H.; LEE, N. Biological deodorization of hydrogen sulfide using porous lava as a carrier of *Thiobacillus thiooxidans*. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 90, n. 1, p. 25-31, 2000.

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.

CHUNG, Y.; HO, K.; TSENG, C. Treatment of high H₂S concentrations by chemical absorption and biological oxidation process. **Environmental engineering science**, v. 23, n. 6, p. 942-953, 2006.

COELHO, S. T.; VELAZQUEZ, S. M. S. G.; PECORA, V.; ABREU, F. C. Energy generation with landfill biogas. **Proceedings of RIO6, World Climate & Energy Event. November**, p. 17-18, 2006.

CONDE, J. L.; MORO, L. E.; TRAVIESO, L.; SANCHEZ, E. P.; LEIVA, A.; DUPEIRON, R.; ESCOBEDO, R. Biogas purification process using intensive microalgae cultures. **Biotechnology letters**, v. 15, n. 3, p. 317-320, 1993.

CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S.; TORRES, B. R.; LODI, A.; ZILLI, M. Biogas production and valorization by means of a two-step biological process. **Bioresource technology**, v. 100, n. 23, p. 5771-5776, 2009.

COSTA, J. A. V.; LINDE G. A.; ATALA, D. I. P. Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. **World J Microbiol Biotechnol**; 16:15–8, 2000.

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.

DAMIANI, M. C.; LEONARDI, P. I.; PIERONI, O. I.; CÁCERES, E. J. Ultrastructure of the cyst wall of *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae): wall development and behaviour during cyst germination. **Phycologia**, v. 45, n. 6, p. 616-623, 2006.

DE HULLU, J.; MAASSEN, J. I. W.; VAN MEEL, P. A.; SHAZAD, S.; VAESSEN, J. M. P.; BINI, L.; REIJENGA, J. C.; Comparing different biogas upgrading techniques. **Technical University of Eindhoven**, 2008.

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3541-3547, 2011.

DEMIRBAS, M. Fatih. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3473-3480, 2011.

DEVINNY J. S.; DESHUSSES M. A.; WEBSTER T. S. Biofiltration for air pollution control. **Lewis Publishers**; 1999.

DINCER, IBRAHIM. Environmental impacts of energy. **Energy policy**, v. 27, n. 14, p. 845-854, 1999.

DOS REIS ALBUQUERQUE, A.; MAUL, J.; DOS SANTOS, J. P.; DOS SANTOS, I. M. G.; DE SOUZA, A. G. Estimation of the oxidation temperature of biodiesels from a limited number of chemical parameters. **Fuel**, 2012.

DUFOSSÉ, L.; GALAUP, P.; YARON, A.; ARAD, S. M.; BLANC, P.; CHIDAMBARA MURTHY, K. N.; RAVISHANKAR, G. A. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 9, p. 389-406, 2005.

FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ, S. J. M.; SÁNCHEZ, P. J. A.; MOLINA, G. E.; CHISTI, Y. Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 8, p. 2721-2732, 2001.

FUDAN UNIVERSITY. Zheng *et al.* **Biogas purification method by culturing autotrophic freshwater microalgae with biogas slurry**. CN102392052 (A) — 2012, 28 mar. 2012, 17 Dec. 2002.

GARCIA-CASAL, M. N.; RAMÍREZ, J.; LEETS, I.; PEREIRA, A. C.; QUIROGA, M. F. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 01, p. 79-85, 2009.

GIORDANO, M.; BEARDALL, J.; RAVEN, J. A. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. **Annu Rev Plant Biol** 56:99–131, 2005.

GOMEZ, P. I.; GONZALEZ, M. A. The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions. **Biological Research**, v. 38, n. 2/3, p. 151, 2005.

GRÜNEWALD, K.; HIRSCHBERG, J.; HAGEN, C. Ketocarotenoid biosynthesis outside of plastids in the unicellular green alga *Haematococcus pluvialis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 8, p. 6023-6029, 2001.

GTZ - **DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR TECHNISCHE ZUSAMMENARBEIT**, http://gate.gtz.de/biogas/AT_biogas.html, Information and Advisory Service on Appropriate Technology - ISAT – GTZ, 2000. Biogas, em 20/03/2013.

HAGEN, M.; POLMAN, E.; Adding gas from biomass to the gas grid. **Final report submitted to Danish Gas Agency**; p. 26–47, 2001.

HANKAMER, B.; LEHR, F.; RUPPRECHT, J.; MUSSGNUG, J. H.; POSTEN, C.; KRUSE, O. Photosynthetic biomass and H₂ production by green algae: from bioengineering to bioreactor scale- up. **Physiologia Plantarum**, v. 131, n. 1, p. 10-21, 2007.

HARASIMOWICZ, M.; ORLUK, G.; ZAKZEWSKA T.; CHMIELEWSKI A. G. Application of polyimide membranes for biogas purification and enrichment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 144, n. 3, p. 698-702, 2007.

HARDY, E. R.; CASTRO, J. G. D. Qualidade nutricional de três espécies de clorófitas cultivadas em laboratório. **Acta Amazonica**, v. 30, n. 1, p. 39-47, 2000.

HO, S.; CHEN C.; LEE D.; CHANG J.; Perspectives on microalgal CO₂ emission mitigation systems — A review. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 2, p. 189-198, 2011.

HODAIFA, G.; MARTÍNEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S. Influence of pH on the culture of *Scenedesmus obliquus* in olive-mill wastewater. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 14, n. 6, p. 854-860, 2009.

HU, Q.; RICHMOND, A. Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 8, n. 2, p. 139-145, 1996.

HU, Q.; GUTERMAN, H.; RICHMOND, A. A flat inclined modular photobioreactor for outdoor mass cultivation of photoautotrophs. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 51, n. 1, p. 51-60, 1996.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, n. 1, p. 38-46, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. “**Sistema de recuperação automático de dados**”, Rio de Janeiro, 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 18 fev. 2013.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Pesquisa **Nacional de Saneamento Básico**. Rio de Janeiro, 2010. 219 p. Relatório técnico.

IEA. **Biogas upgrading and utilisation**. 2000.

ILLMAN, A. M.; SCRAGG, A. H.; SHALES, S. W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 27, n. 8, p. 631-635, 2000.

International Energy Agency - **IEA World Energy Outlook 2010 IEA**, Paris (2010).

JACOB-LOPES, E.; REVAH, S.; HERNÁNDEZ, S.; SHIRAI, K.; FRANCO, T. T. Development of operational strategies to remove carbon dioxide in photobioreactors. **Chemical Engineering Journal**, v. 153, n. 1, p. 120-126, 2009.

JIANG, L.; LUO, S.; FAN, X.; YANG, Z.; GUO, R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. **Applied energy**, v. 88, n. 10, p. 3336-3341, 2011.

JÖNSSON, O.; PERSSON, M. Biogas as transportation fuel. **Regenerative Kraftstoffe**, p. 37, 2003.

COSTA, J. A. V. (BR/RS). **PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS UTILIZANDO BIOMASSA DE MICROALGAS E/OU CIANOBACTÉRIAS**. PI0703245-5 A2, 14 set. 2011, 21 Jun. 2007.

KAO, C. Y.; CHIU, S. Y.; HUANG, T. T.; DAI, L.; HSU, L. K.; LIN, C. S. Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. **Applied Energy**, v. 93, p. 176-183, 2012.

KAPDI, S. S.; VIJAY, V. K.; RAJESH, S. K.; PRASAD, R. Biogas scrubbing, compression and storage: perspective and prospectus in Indian context. **Renewable energy**, v. 30, n. 8, p. 1195-1202, 2005.

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.

KERSCHBAUM, S.; RINKE, G.; SCHUBERT, K. Winterization of biodiesel by micro process engineering. **Fuel**, v. 87, n. 12, p. 2590-2597, 2008.

KESSLER, E. *Scenedesmus*: Problems of a highly variable genus of green algae. **Bot. Acta** 104:169-171, 1991.

KHAPRE U. L. Studies on biogas utilization for domestic cooking. **XXV annual convention of ISAE**, held at CTAE, Udaipur; 1989.

KIT BIOGÁS – Alfakit/EMBRAPA –
http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=1068. Acesso em 20/02/2013.

KONDILI, E. M.; KALDELLIS, J. K. Biofuel implementation in East Europe: Current status and future prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 11, n. 9, p. 2137-2151, 2007.

KRICHNAVARUK, S.; LOATAWEESUP, W.; POWTONGSOOK, S.; PAVASANT, P. Optimal growth conditions and the cultivation of *Chaetoceros calcitrans* in airlift photobioreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 105, n. 3, p. 91-98, 2005.

KUNZ, A.; SULZBACH, A. **Kit biogás portátil**. Concórdia: EMBRAPA – CNPSA, 2007. 2 p.
http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=1068. Acesso em 20/02/2013.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Renewable and sustainable bioenergies production from palm oil mill effluent (POME): Win–win strategies toward better environmental protection. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 1, p. 124-141, 2011.

LAMERS, P. P.; JANSSEN, M.; DE VOS, R. C.; BINO, R. J.; WIJFFELS, R. H. Exploring and exploiting carotenoid accumulation in *Dunaliella salina* for cell-factory applications. **Trends in biotechnology**, 26(11), 631-638, 2008.

LEE, B. D.; APEL, W. A.; WALTON, M. R. Calcium carbonate formation by *Synechococcus* sp. strain PCC 8806 and *Synechococcus* sp. strain PCC 8807. **Bioresource technology**, v. 97, n. 18, p. 2427-2434, 2006.

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

LU, X.; DING, J.; WANG, Y.; SHI, J. Comparison of the hydrodynamics and mass transfer characteristics of a modified square airlift reactor with common airlift reactors. **Chemical Engineering Science**, v. 55, n. 12, p. 2257-2263, 2000.

MAKARUK, A.; MILTNER, M.; HARASEK, M. Membrane biogas upgrading processes for the production of natural gas substitute. **Separation and Purification Technology**, v. 74, n. 1, p. 83-92, 2010.

MANN, G.; SCHLEGEL, M.; SCHUMANN, R.; SAKALAUSKAS, A. Biogas-conditioning with microalgae. **Agron. Res**, v. 7, n. 1, p. 33-38, 2009.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MEDINA, A. R.; GRIMA, E. M.; GIMÉNEZ, A. G.; GONZALEZ, M. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 3, p. 517-580, 1998.

MERCHUK, J. C.; GLUZ, M. “**Bioreactors, Air-Lift Reactors, Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation**”, New York, v.1 p. 320, 1999.

MESECK, S. L.; ALIX, J. H.; WIKFORS, G. H. Photoperiod and light intensity effects on growth and utilization of nutrients by the aquaculture feed microalga, *Tetraselmis chui* (PLY429). **Aquaculture**, v. 246, p. 393-404, 2005.

METCALF, L.; EDDY, H. P.; TCHOBANOGLOUS, G. **Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse**. McGraw-Hill, 1972.

METTING JR, F. B. Biodiversity and application of microalgae. **Journal of industrial microbiology**, v. 17, n. 5-6, p. 477-489, 1996.

MIRÓN, A.; CERÓN, G. M. C.; GARCÍA, C. F.; MOLINA, G. E.; CHISTI, Y. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. **Enzyme and microbial technology**, v. 31, n. 7, p. 1015-1023, 2002.

MITARITEN, M. J. Landfill gas upgrading process. **U.S. Patent Application** 11/233,762, 23 set. 2005.

MIYAWAKI, B.; VARGAS, V. J. C.; MARIANO, A. B.; CORRÊA, O. D.; SANTOS, B.; SAKUMA, A. C.; SELESU, N. H.; PEIXOTO, P.; SILVA, D. A.; TAHER, D. M.; DILAY, E. Fotobiorreator tubular para tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões. INPI BR-10 2013 0263958. 14 de Out. 2013.

MOLINA, G. E.; SÁNCHEZ, P. J. A.; GARCIA, C. F.; GARCIA, S. J. L.; ACIÉN, F. F. G.; LÓPEZ, A. D. Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. **Journal of biotechnology**, v. 37, n. 2, p. 159-166, 1994.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V.; Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. And *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 129, p. 439-445, 2007.

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

MORITA, M.; WATANABE, Y.; SAIKI, H. Investigation of photobioreactor design for enhancing the photosynthetic productivity of microalgae. **Biotechnology and bioengineering**, v. 69, n. 6, p. 693-698, 2000.

MUNEER, T.; MAUBLEU, S.; ASIF, M. Prospects of solar water heating for textile industry in Pakistan. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, n. 1, p. 1-23, 2006.

NAGEL, C. C.; COSTA, A. C.; PADRE, J. **Destinação Ambientalmente Correta de Resíduos das Indústrias de Abate Bovino e Couro**. 2002 Tese (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação e, Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, 2002.

NOGUEIRA, L. A. H. **Biodigestão a Alternativa Energética**. Editora Nobel, São Paulo. 93p, 1986.

NORTON, T. A.; MELKONIAN, M.; ANDERSEN, R. A. Algal biodiversity. **Phycologia**, v. 35, n. 4, p. 308-326, 1996.

OLIVEIRA, C. A. **Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus* sp. em efluente de bovinocultura biodigerido**. 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013.

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.

PANWAR, N. L.; KAUSHIK, S. C.; KOTHARI, Surendra. Role of renewable energy sources in environmental protection: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 3, p. 1513-1524, 2011.

PERDOMO, C.C.; LIMA, G.J.M.M.; NONES, K. **Suinocultura e estratégias para a redução de gases e poluentes**. In: LIMA, M.A.; CABRAL, O.M.R.; MIGUEZ, J.D.G. (Ed.) Mudanças climáticas globais e a agropecuária brasileira. Jaguariúna: EMBRAPA/CNPMA, cap. 16, p.325-45, 2001.

PETERSSON, A.; WELLINGER, A. Biogas upgrading technologies—developments and innovations. **IEA Bioenergy**, p. 12-15, 2009.

PORPATHAM, E.; RAMESH, A.; NAGALINGAM, B. Effect of hydrogen addition on the performance of a biogas fuelled spark ignition engine. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 32, n. 12, p. 2057-2065, 2007.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.65, p.635-648, 2004.

QIU, M.; HWANG, S.; KAO, Y. Economic evaluation of gas membrane separator designs. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 28, n. 11, p. 1670-1677, 1989.

RAJA, R.; HEMAISWARYA, S.; RENGASAMY, R. Exploitation of *Dunaliella* for β -carotene production. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 74, n. 3, p. 517-523, 2007.

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

RAVEN, J. A. Sensing pH? **Plant, Cell & Environment**, v. 13, n. 7, p. 721-729, 1990.

RAVEN, J. A.; BALL, L. A.; BEARDALL, J.; GIORDANO, M.; MABERLY, S. C.; Algae lacking carbon-concentrating mechanisms. **Can J Bot** 89:879–890, 2005.

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.; BOUSSIBA, S.; VONSHAK, A.; KOPEL, R. A new tubular reactor for mass production of microalgae outdoors. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 3, p. 327-332, 1993.

RICHMOND, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. In: **Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges**. Springer Netherlands, p. 33-37, 2004.

RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. John Wiley & Sons, 2008.

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.

RORRER, G.L.; MULLIKIN, R.K. Modeling and simulation of a tubular recycle photobioreactor for macroalgal cell suspensions cultures. **Chemical engineering Science**.n.54.p.3153-3162, 1999.

SAMSON, R.; LEDUY, A. Multistage continuous cultivation of blue- green alga *Spirulina maxima* in the flat tank photobioreactors with recycle. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 63, n. 1, p. 105-112, 1985.

SANTOSH, Y.; SREEKRISHNAN, T. R.; KOHLI, S.; RANA, V. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques--a review. **Bioresource technology**, v. 95, n. 1, p. 1, 2004.

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.

SCHELL, W. J.; HOUSTON, C. D. Use of membranes for biogas treatment. **Energy Prog.:(United States)**, v. 3, n. 2, 1983.

SCHROEDER, L. **Obtenção de ácidos graxos de biomassa úmida de microalgas através de saponificação**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013.

SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N. E. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake dissolved inorganic carbon. **Plant and cell physiology**, v. 34, n. 5, p. 649-657, 1993.

SILVA, D. A. **Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biocombustíveis**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013.

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).

SKJANES, K.; LINDBLAD, P.; MULLER, J. BiOCO₂ - A multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H² and high value products. **Biomolecular Engineering**, v. 24, p. 405-413, 2007.

SOONG, P. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan Algae Biomass, **Elsevier/North Holland Biomedical Press**, pp. 97–113, 1980.

SONG, D.; FU, J.; SHI, D. Exploitation of oil-bearing microalgae for biodiesel. **Chinese journal of biotechnology**, v. 24, n. 3, p. 341-348, 2008.

SPILLMAN, R. W. Economics of gas separation membranes. **Chemical Engineering Progress**, v. 85, n. 1, p. 41-62, 1989.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **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 CO₂ solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, 2013 (não publicado).

SUNG, K. D.; LEE, J. S.; SHIN, C. S.; PARK, S. C.; CHOI, M. J. CO₂ fixation by *Chlorella* sp. KR-1 and its cultural characteristics. **Bioresource technology**, v. 68, n. 3, p. 269-273, 1999.

TAHER, D.M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigerido**. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: 3ª edição, Artmed, 2004.

TALEGHANI, G.; SHABANI KIA, A.; Technical–economical analysis of the Saveh biogas power plant. **Renewable Energy**, v. 30, n. 3, p. 441-446, 2005.

TAKAGI, M.; YOSHIDA, T. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, n. 3, p. 223-226, 2006.

TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3071-3076, 2011.

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.

TREDICI, M. R. Mass production of microalgae: photobioreactors. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**, v. 1, p. 178-214, 2004.

TREDICI, M. R. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. **Biofuels**, v. 1, n. 1, p. 143-162, 2010.

TSUKAHARA, K.; SAWAYAMA, S. Liquid fuel production using microalgae. **J Jpn Pet Inst**, v. 48, n. 5, p. 251, 2005.

TUNG, H. L.; CHANG, Y. Y.; HWANG, T. K.; WU, W. T. Liquid mixing and mass transfer in a modified bubble column with suspended particles. **Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers**, v. 29, n. 6, p. 467-472, 1998.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource technology**, v. 99, n. 10, 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.

VASCONCELOS, J. M. T.; RODRIGUES, J. M. L.; ORVALHO, S. C. P.; ALVES, S. S.; MENDES, R. L.; REIS, A. Effect of contaminants on mass transfer coefficients in bubble column and airlift contactors, **Chem. Eng. Sc.** 58, 1431 – 1440, 2003.

VEGA, B.O.A.; VOLTOLINA, D. Concentración, recuento celular y tasa de crecimiento. 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), p. 17-25. 2007.

VENDRUSCULO, J. B. G. **Cultivo da microalga *Scenedesmus quadricauda* em efluentes de biodigestão de aves e suínos**. 45 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura Continental). Universidade Católica de Goiás, 2009.

VIDYASHANKAR, S.; DEVIPRASAD, K.; CHAUHAN, V. S.; RAVISHANKAR, G. A.; SARADA, R. Selection and evaluation of CO₂ tolerant indigenous microalga *Scenedesmus dimorphus* for unsaturated fatty acid rich lipid production under different culture conditions. **Bioresource technology**, v. 144, p. 28-37, 2013.

VONSHAK, A. ***Spirulina Platensis* - Arthrospira: Physiology, Cell Biology and Biotechnology**. CRC Press, 1997.

VERGARA-FERNÁNDEZ, A.; VARGAS, G.; ALARCÓN, N.; VELASCO, A. Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system. **Biomass and Bioenergy**, v. 32, n. 4, p. 338-344, 2008.

WANG, Y.; DUANMU, D.; SPALDING, M. H.; Carbon dioxide concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*: inorganic carbon transport and CO₂ recapture. **Photosynth Res** 109:115–122, 2011.

WANG, B.; LAN, C. Q.; HORSMAN, M. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 4, p. 904-912, 2012.

WEIGMANN, P. R. **Metodologia para eficiência energética, otimização do consumo e combate ao desperdício de energia através da inserção da cultura empreendedora e fontes de inovação tecnológica**. 99f. Dissertação de Mestrado. 112 Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

WIDJAJA, A.; CHIEN, C. C.; JU, Y. H. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 40, n. 1, p. 13-20, 2009.

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.

XU, Z.; DAPENG, L.; YIPING, Z.; XIAOYAN, Z.; ZHAOLING, C.; WEI, C.; FAN, O. Comparison of photobioreactors for cultivation of *Undaria pinnatifida* gametophytes. **Biotechnology letters**, v. 24, n. 18, p. 1499-1503, 2002.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 126, n. 4, p. 499-507, 2006.

YUAN, J.; CHEN, F. Purification of trans astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. **Food chemistry**, v. 68, n. 4, p. 443-448, 2000.

ZHEKISHEVA, M.; BOUSSIBA, S.; KHOZIN- GOLDBERG, I.; ZARKA, A.; COHEN, Z. Accumulation of oleic acid in *Haematococcus pluvialis* (chlorophyceae) under nitrogen starvation or high light is correlated with that of astaxanthin esters. **Journal of Phycology**, v. 38, n. 2, p. 325-331, 2002.

ANEXOS

- ANEXO 01 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 139292 (CEPPA) –
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DO EFLUENTE
SUÍNO BIODIGERIDO
- ANEXO 02 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 139429 (CEPPA) –
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DO EFLUENTE
SUÍNO TRATADO
- ANEXO 03 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 139428 (CEPPA) –
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ESGOTO
BIODIGERIDO.....
- ANEXO 04 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 131399 (CEPPA) –
PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DO EFLUENTE
BOVINO BIODIGERIDO.....
- ANEXO 05 – DEPÓSITO DO PEDIDO DA PATENTE – PROTOCOLO Nº BR
2013 026395 8

ANEXO 01



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. 19.033 - FONES: (41) 3386-3668 / 3361-3195 - FAX: (41) 9286-1647
e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01



30 ANOS GARANTINDO QUALIDADE

CERTIFICADO DE ANÁLISE

139292

PRODUTO: EFLUENTE

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

SOLICITANTE: BRUNO MIYAWAKI

ENDEREÇO: RUA ERASMO MAEDER, 348 - BAIRRO ALTO - CURITIBA/PR

PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 850 - 09/09/13

AMOSTRA: 2502/13

Informações da amostra			
Data da coleta:	09/09/13	Condições do tempo:	Bom
Hora da coleta:	14h	Responsável pela coleta e informações:	Solicitante

RESULTADOS**PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

	Unidade de medida	Resultado
Fósforo	mg/L	101,71
Ferro Dissolvido	mg/L	7,90

REFERÊNCIA

CEPPA - Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Determinação dos Elementos por ICP OES. PE-LE-032/R05. Curitiba, 2012. 16p

Dados do ensaio: Início: 13/09/13 Término: 24/09/13 Executora: Cintia L. G. Lopes.

Eriél F. de Andrade
Gerente Técnico
CRBio50292/07-07D**PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

	Unidade de medida	Resultado
(1) Demanda Bioquímica de Oxigênio	mg/L	12.552,63
(2) Demanda Química de Oxigênio	mg O ₂ /L	27.876,00
(3) Nitrato	mg NO ₃ ⁻ -N/L	< 2,50
(4) Nitrito	mg NO ₂ ⁻ -N/L	< 0,50
(5) Nitrogênio Amoniacal	mg/L	2.878,61
(6) Sólidos Suspensos Totais	mg/L	5.740,00

REFERÊNCIAS

- 5-DAY BOD Test. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 5.2-7 (Method 5210 B)
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12614: Águas - determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) - (método de incubação 20°C, cinco dias). Rio de Janeiro, 1992. 5 p.
- OPEN Reflux method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 5.15-16 (Method 5220 B)
- CADMIUM Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4.123-125 (Method 4500-NO₃-E)
- COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4.118-119 (Method 4500-NO₂-B)
- PRELIMINARY Distillation Step. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4.109-110 (Method 4500-NH₃-B)
- TITRIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4.110-111 (Method 4500-NH₃-C)
- TOTAL Suspended Solids Dried at 103-105°C. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 2.58 (Method 2540 D)

Dados do ensaio: Início: 11/09/13 Término: 27/09/13 Executora: Valdirene Barão

/K

Curitiba, 27 de setembro de 2013

Cristiana Mara Guolo
Gerente Técnica e Coordenadora
dos Laboratórios
CRF - 5891/PR

ANEXO 02



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 SETOR DE TECNOLOGIA
CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS
 CENTRO POLITECNICO - 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

01/01

**CERTIFICADO DE ANÁLISE**

139429

PRODUTO: EFLUENTE
 FABRICANTE/PRODUTOR: -----X-----
 SOLICITANTE: BRUNO MIYAWAKI
 ENDEREÇO: RUA ERASMO MAEDER, 348 - BAIRRO ALTO - CURITIBA/PR
 PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA Nº: 922 - 01/10/13
 AMOSTRA: 2643/13

Informações da amostra

Data da coleta: 01/10/13 Hora da coleta: 10h Responsável pela coleta e informações: Solicitante

RESULTADOS**PARÂMETRO FÍSICO-QUÍMICO**

	Unidade de medida	Resultado
Fósforo	mg/L	< 0,04
Ferro dissolvido	mg/L	71,38

REFERÊNCIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Determinação dos Elementos por ICP OES. PE-LE-032/R05. Curitiba, 2012. 16p

Dados do ensaio: Início: 09/10/13 Término: 11/10/13 Executora: Cintia L. G. Lopes.

Eriel F. de Andrade
 Gerente Técnico
 CRBio50292/07-07D

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
(1) Demanda Bioquímica de Oxigênio	mg/L	23,27
(2) Demanda Química de Oxigênio	mg O ₂ /L	132,00
(3) Nitrato	mg NO ₃ ⁻ -N/L	0,19
(4) Nitrito	mg NO ₂ ⁻ -N/L	< 0,01
(5) Nitrogênio Amoniacal	mg NH ₃ -N/L	< 1,00
(6) Sólidos Suspensos Totais	mg/L	30,00

REFERÊNCIAS

- 5-DAY BOD Test. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 5-2-7 (Method 5210 B)
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12614: Águas - determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) - (método de incubação 20°C, cinco dias). Rio de Janeiro, 1992. 5 p.
- OPEN Reflux method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 5-15-16 (Method 5220 B)
- CADMIUM Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-123-125 (Method 4500-NO₃-E)
- COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-118-119 (Method 4500-NO₂-B)
- PRELIMINARY Distillation Step. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-109-110 (Method 4500-NH₃-B)
- TITRIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-110-111 (Method 4500-NH₃-C)
- TOTAL Suspended Solids Dried at 103-105°C. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 2-58. (Method 2540 D)

Dados do ensaio: Início: 02/10/13 Término: 11/10/13 Executora: Valdirene Barão

/K

Curitiba, 11 de outubro de 2013

Cristina Maria Scola
 Gerente Técnica e Coordenadora
 dos Laboratórios
 CRF - 5891 PR

ANEXO 03



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) 3385-3668 / 3384-3195 - FAX: (41) 3266-1647
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-990 - CURITIBA - PARANÁ

01/01



28 ANOS GARANTINDO QUALIDADE!

CERTIFICADO DE ANÁLISE

139428

PRODUTO: ESGOTO BIODIGERIDO**FABRICANTE/PRODUTOR:** -----X-----**SOLICITANTE:** DÉBORA ANDREATTA DA SILVA**ENDEREÇO:** RUA JOSÉ RODRIGUES FORTES, 117 - JARDIM PATRÍCIA - QUATRO BARRAS/PR**PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N°:** 907 - 01/10/13**AMOSTRA:** 2618/13**Informações da amostra**

Data da coleta: 30/09/13	Hora da coleta: 14h	Responsável pela coleta e informações: Solicitante
--------------------------	---------------------	--

RESULTADOS**PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

	Unidade de medida	Resultado
Fósforo	mg/L	4,49
Ferro Dissolvido	mg/L	1,02

REFERÊNCIA

CEPPA. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos. Determinação dos Elementos por ICP OES. PE-LE-032/R05. Curitiba, 2012. 16p.

Dados do ensaio: Início: 09/10/13 Término: 11/10/13 Executora: Cintia L. G. Lopes.

Erieli F. de Andrade
 Gerente Técnico
 CRBio50292/07-07D

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
(1) Demanda Bioquímica de Oxigênio	mg/L	425,65
(2) Demanda Química de Oxigênio	mg O ₂ /L	1.460,00
(3) Nitrato	mg NO ₃ ⁻ -N/L	< 2,50
(4) Nitrito	mg NO ₂ ⁻ -N/L	< 0,50
(5) Nitrogênio Amoniacal	mg NH ₃ -N/L	425,47
(6) Sólidos Suspensos Totais	mg/L	168,00

REFERÊNCIAS

- 5-DAY BOD Test. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 52-7 (Method 5210 B).
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12614: águas - determinação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) - (método de incubação 20°C, cinco dias). Rio de Janeiro, 1992. 5 p.
- OPEN Reflux method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 5-15-16 (Method 5220 B).
- CADMIUM Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-123-125 (Method 4500-NO₃-E).
- COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-118-119 (Method 4500-NO₂-B).
- PRELIMINARY Distillation Step. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-109-110 (Method 4500-NH₃-B).
- TITRIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 4-110-111 (Method 4500-NH₃-C).
- TOTAL Suspended Solids Dried at 103-105°C. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater. 21st ed. Washington: APHA; AWWA; WEF, 2005. p. 2-58. (Method 2540 D).

Dados do ensaio: Início: 02/10/13 Término: 11/10/13 Executora: Valdirene Barão

Curitiba, 11 de outubro de 2013

/K

Cristiana Mara Giola
 Gerente Técnica e Coordenadora
 dos Laboratórios
 CRF - 5891 PR

OBSERVAÇÃO: - A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR RESTRITO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.
 - AS INFORMAÇÕES CONSTANTES NESTE CERTIFICADO DE ANÁLISE SÃO CONFIDENCIAIS E PERTENCENTES AO SOLICITANTE.
 - É PERMITIDA A REPRODUÇÃO, DESDE QUE INTEGRALMENTE E SEM NENHUMA ALTERAÇÃO.

ANEXO 04

81/02



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 SETOR DE TECNOLOGIA
CEPPA - CENTRO DE PESQUISA E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS
CENTRO POLITÉCNICO - PRÉDIO DAS LERIAS PL. 070 - QUADRA - SALA 778
 CP. P. 81532 - FONE: (41) 3361-9889 / 3361-2158 - FAX: (41) 3361-1547
 e-mail: ceppa@ufpr.br - www.ceppa.ufpr.br - CEP 81531-980 - CURITIBA - PARANÁ

CERTIFICADO DE ANÁLISE N.º 131399

PRODUTO: EFLUENTE DE BIODIGESTOR **BOVINO**
 FABRICANTE/PRODUTOR: ---X---
 SOLICITANTE: Amanda Cristina de Oliveira
 ENDEREÇO: NPDEAS / UFPR - Centro Politécnico - Curitiba/PR
 PROTOCOLO DE RECEPÇÃO DE AMOSTRA N.º: 1152 - 22/09/11
 AMOSTRA: 3778/11

Informações da amostra			
Data da coleta:	20/09/11	Condições do tempo:	Nublado
Hora da coleta:	10h30min	Responsável pela coleta:	Solicitante
O CEPPA não se responsabiliza pela coleta realizada pelo solicitante.			

RESULTADOS

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

	Unidade de medida	Resultado
Fósforo	mg/l	46,61
Potássio	mg/L	632,82
Sódio	mg/L	157,16

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 CEPPA - Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Análise de Água e Efluentes em N.º 015, P.O. 11-01/010 Curitiba, 2011. 10 p.
 Data do ensaio:
 Início: 27/09/11 Término: 02/10/11

Curitiba, 06 de outubro de 2011


 Emília Borges
 Gerente Técnica
 CRQ 091/00126


 Jacqueline Taveira Canguelo
 Coordenadora do Laboratório
 CRQ 092/00768 - 9.º Região

OBSERVAÇÃO: - A PRESENTE ANÁLISE TEM SEU VALOR REFERIDO A AMOSTRA RECEBIDA PELO CEPPA.

PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

		Unidade de medida	Resultados
(1) Demanda Bioquímica de Oxigênio	119,48	mg/L	186,22
(2) Demanda Química de Oxigênio	336,37	mg O ₂ /L	1.165,66
(3) Nitrogênio amoniacal		mg NH ₃ -N/L	192,76
(4) Nitrogênio Total		mg /L	259,64
(5) Nitrogênio Kjeldahl Total		mg /L	259,59
(6) Nitrato	0,19	mg NO ₃ ⁻ -N/L	0,05
(7) Nitrito	0,02	mg NO ₂ ⁻ -N/L	< 0,02

METODOLOGIAS
 1-DAY BOD Test. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 52-1 (Method 5200 B)
 APHA - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12014: água - determinação de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) - método de oxidação 20°C, cinco dias
 ISO 157: 1972, 1972
 2-OPEN REFLEX method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 515-15 (Method 5200 B)
 3-INTRODUCTION and PRELIMINARY INSTRUCTIONS. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-108
 4-BIACRO-KJELDAHL method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-130-132 (Method 4500-N_T, 4 e 4B)
 5-BIACRO-KJELDAHL method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-130-132 (Method 4500-N_T, 4 e 4B)
 6-CADMO BARI Reduction Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-133-135 (Method 4500-NO₃, 4B)
 7-COLORIMETRIC Method. In: STANDARD methods for the examination of water and wastewater 21st ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. p. 4-118-119 (Method 4500-NO₂, 4B)

Dados do ensaio:
 Início: 27/09/11 Término: 06/10/11
 Executoras: Maria Judite Izerman e Louise Cretuna.

Curitiba, 06 de outubro de 2011


 Mariana Keikda Medeiros
 Gerente Técnica
 CRQ 092/0830 - 9º registro


 Cristiana Mara Quilo
 Coordenadora do Laboratório
 CRF - 5891 PR

