

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KELVIN GARCIA DA SILVA

AVALIAÇÃO DA TAXA DE CRESCIMENTO DE MICROALGAS *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri* CULTIVADAS EM FOTOBIORREATOR COM DIFERENTES FONTES DE ILUMINAÇÃO

PONTAL DO PARANÁ

2022

KELVIN GARCIA DA SILVA

AVALIAÇÃO DA TAXA DE CRESCIMENTO DE MICROALGAS *Isochrysis galbana* E
Chaetoceros muelleri CULTIVADAS EM FOTOBIORREATOR COM DIFERENTES
FONTES DE ILUMINAÇÃO

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Lagreze

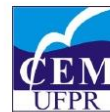
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Laureno Mafra Junior

PONTAL DO PARANÁ

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA TERRA
CENTRO DE ESTUDOS DO MAR
Campus Pontal do Paraná



TERMO DE APROVAÇÃO

KELVIN GARCIA DA SILVA

***AVALIAÇÃO DA TAXA DE CRESCIMENTO DE
MICROALGAS ISOCHRYSIS GALBANA E CHAETOCEROS
MUELLERI CULTIVADAS EM FOTOBIORREATOR COM
DIFERENTES FONTES DE ILUMINAÇÃO.***

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro de Aquicultura da Universidade Federal do Paraná, pela comissão formada pelos professores

Dr. Francisco Lagreze
Orientador e presidente



Dra. Silvia Pedroso Melegari
Membro examinador

Assinado de forma digital por Silvia Pedroso Melegari
DN: cn=Silvia Pedroso Melegari, o=Federal University of
Paraná, ou=Center for Marine Studies,
email=silvia.melegari@ufpr.br, c=BR
Dados: 2022.09.26 16:09:17 -03'00'

Dr. Jefferson Francisco Alves Legat
Membro examinador

Pontal do Paraná, 20/09/2022

Dedico este trabalho aos meus pais Rita de Cassia e Zilando da Silva e aos meus irmãos Larissa, Zilmar, Luciane e Alexandre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela saúde e disposição que nos permitiram a realização durante toda a graduação e o período da realização deste trabalho. Aos meus pais, Rita de Cassia e Zilando da Silva que me auxiliaram e incentivaram a minha permanência na graduação e a banca julgadora.

Agradeço meu professor orientador Dr. Francisco Lagreze pela camaradagem e auxílio prestado, não deixando que me faltasse nada para execução desta pesquisa, agradeço ainda meu coorientador Dr. Luiz Laurenno Mafra Junior por todas as vezes que me prestou auxílio e orientação, sempre calmo e de prontidão.

Aos meus amigos Gabriel Melo, Jeferson Inglez e Thiago Saccheto, que me prestaram auxílio diretamente ou indiretamente na execução deste estudo.

Agradeço a Universidade Federal do Paraná, pelo acolhimento e suporte para a realização da minha graduação, onde eu pude presenciar o quão transformador esta instituição federal de ensino público, age na vida de uma pessoa para melhor.

Agradecemos também a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo.

RESUMO

As diferentes espécies de microalgas que compõem o fitoplâncton realizam seus diversos papéis ecológicos e processos biológicos fundamentais com eficiências distintas quanto à utilização de recursos. Considerando que estes microrganismos fotossintetizantes possuem, ainda, elevado interesse econômico, seu cultivo em ambiente controlado e otimizado constitui uma forma viável e sustentável de se obter biomassa elevada e de qualidade. O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência da iluminação com lâmpadas LED e fluorescentes no crescimento das microalgas *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri* em fotobiorreator, com sacos suspensos. Como delineamento experimental, os cultivos das duas espécies, em triplicata, foram distribuídos de forma aleatória dentro de cada tratamento (tipo de lâmpada). Foram realizadas colheitas a cada 12h da cultura algal, para contagem de células por microscópio, utilizando uma câmara de Neubauer, junto com a aferição de outros parâmetros (pH e temperatura). Para realização da comparação entre os resultados dos tratamentos (diferentes lâmpadas) foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e a visualização das curvas de crescimento. Foi observado que a espécie *I. galbana* apresentou uma taxa de crescimento de $0,48 \pm 0,05 \text{ d}^{-1}$ e $0,58 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$, nos tratamentos LED e fluorescente, respectivamente, na fase de crescimento exponencial, enquanto que a *C. muelleri* apresentou $0,56 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$ e $0,58 \pm 0,01 \text{ d}^{-1}$, respectivamente sob os tratamentos LED e fluorescente. Apesar das maiores densidades celulares de ambas as espécies terem ocorrido mediante iluminação com lâmpadas fluorescentes, as lâmpadas LED brancas utilizadas apresentam vantagens ambientais e econômicas em relação as lâmpadas fluorescentes.

Palavras-chave: Microalga. Fotobiorreator. Iluminação. Lâmpada LED. Lâmpada Fluorescente.

ABSTRACT

The different species of microalgae that compose phytoplankton perform their ecological roles and fundamental biological processes with different efficiencies between species. Considering that these photosynthetic microorganisms have high economic interest, their cultivation in a controlled and optimized environment is a viable and sustainable way to obtain high quality biomass. The objective of this work was to evaluate the efficiency of lighting efficiency by LED or fluorescent (FS) lamps for the growth of the microalgae *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros muelleri* in an intensive suspension culture system. As an experimental design, the cultures of the two species, in triplicate, were randomly distributed within each treatment (type of lamp). Periodic collections were performed every 12 hours, for cell counting by microscope, using a Neubauer chamber. To compare the results of the treatments (different lamps) an analysis of variance (ANOVA) and a visualization of the growth curves were performed. The species *Isochrysis galbana* presented a growth rate of $0.48 \pm 0.05 \text{ d}^{-1}$ and $0.58 \pm 0.06 \text{ d}^{-1}$, in the LED and fluorescent treatments, respectively, in the exponential growth phase, while the *Chaetoceros muelleri* presented $0.56 \pm 0.02 \text{ d}^{-1}$ and $0.58 \pm 0.01 \text{ d}^{-1}$, respectively under LED and fluorescent treatments. Despite the higher cell densities of both species having occurred under lighting with fluorescent lamps, the white LED lamps used present more satisfactory environmental and economic advantages.

Keywords: Microalgae. Photobioreactor. Lighting. Led lamp. Fluorescent lamp..

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Fotobiorreator com lâmpadas LED e fluorescentes	17
FIGURA 2 – Fluxograma experimento PILOTO	18
FIGURA 3 – Garrafas contendo os inóculos para o Experimento PILOTO	19
FIGURA 4 – Inoculação das bolsas do experimento PILOTO.....	20
FIGURA 5 – Fluxograma da metodologia do experimento	21
FIGURA 6 – Erlenmeyers de 75 e 300 mL e garrações de 2L de <i>Isochrysis galbana</i> e <i>Chaetoceros muelleri</i>	22
FIGURA 7 – Cultura mantida em constante movimentação, através de suprimento de ar	23
FIGURA 8 – Teste de intensidade de luz, Adição de Conway	24
FIGURA 9 – Isolamento dos tratamentos com lona	24
FIGURA 10 – Bolsas de cultivo experimento PILOTO com 8 dias	28
FIGURA 11 – Resultados dos testes comparativos para pH e densidade celular (cel.mL ⁻¹)	42
FIGURA 12 – Resultados do teste comparativos para μ_{exp}	43

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – Relação entre pH e densidade celular DC (celular / mL x 10 ⁶) de <i>Isochrysis galbana</i> por tempo de experimento.....	29
GRÁFICO 2 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL ⁻¹ x 10 ⁶) de <i>Nannochloropsis oculata</i> por tempo de experimento	30
GRÁFICO 3 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL ⁻¹ x 10 ⁶) de <i>Phaeodactylum tricornutum</i> por tempo de experimento.....	30
GRÁFICO 4 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL ⁻¹ x 10 ⁶) de <i>Tetraselmis suecica</i> por tempo de experimento.....	31
GRÁFICO 5 – Relação entre pH densidade celular DC (célula.mL ⁻¹ x 10 ⁶) de <i>Rhodomonas salina</i> por tempo de experimento.....	32
GRÁFICO 6 – Relação entre pH e densidade celular DC (células.mL ⁻¹ x 10 ⁶) de <i>Pavlova lutheri</i> por tempo de experimento	32
GRÁFICO 7 – Relação entre pH e densidade celular DC em (células.mL ⁻¹ 10 ⁶) de <i>Isochrysis galbana</i> sob tratamento de lâmpadas fluorescente por horas de experimento	35
GRÁFICO 8 – <i>Isochrysis galbana</i> , fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas fluorescente	35
GRÁFICO 9 – Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL ⁻¹ (10 ⁶) de <i>Isochrysis galbana</i> sob tratamento de lâmpadas LED por horas de experimento	36
GRÁFICO 10 – <i>Isochrysis galbana</i> , fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas LED.....	37
GRÁFICO 11 – Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL ⁻¹ (10 ⁶) de <i>Chaetoceros muelleri</i> sob tratamento de lâmpadas fluorescente por horas de experimento	38
GRÁFICO 12 – <i>Chaetoceros muelleri</i> fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas Fluorescente.....	38
GRÁFICO 13 – Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL ⁻¹ (10 ⁶) de <i>Chaetoceros muelleri</i> sob tratamento de lâmpadas LED por horas de experimento	39
GRÁFICO 14 – <i>Chaetoceros muelleri</i> fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas LED.....	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Leitura digital do medidor de luz LI-250.....	27
TABELA 2 - valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada espécie	28
TABELA 3 - Temperatura da sala de experimento.....	33
TABELA 4 - Temperaturas médias, diárias da unidade experimental com lâmpadas fluorescentes.....	33
TABELA 5 - Temperaturas médias, diárias da unidade experimental LED	34
TABELA 6 - valores de R^2 e a. equação da linha de tendência exponencial, dias de experimento na fase exponencial e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada tratamento	40
TABELA 7 - Comparação estatística dos tratamentos	41

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

UFPR	- Universidade Federal do Paraná
CEM	- Centro de Estudos do Mar
LAMIC	- Laboratório de Microalgas CEM-UFPR
LEMAqui	- Laboratório de Engenharia em Malacocultura CEM-UFPR
FS	- Fluorescente
LED	- Light Emitting Diode (Diodo Emissor de Luz)
ISO	- <i>Isochrysis galbana</i>
CM	- <i>Chaetoceros muelleri</i>
mm	- Milímetro
cm	- Centímetro
m	- Metro
mL	- Mililitro
L	- Litro

LISTA DE SÍMBOLOS

°C - Grau Celsius

μm - Micrômetro

± SD - ± Desvio padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 ESTRUTURA	16
3.2 EXPERIMENTO I (PILOTO).....	18
3.3 EXPERIMENTO II (COM DIFERENTES FONTES DE ILUMINAÇÃO)	21
4 RESULTADOS	27
4.1 EXPERIMENTO I (PILOTO).....	27
4.2 EXPERIMENTO II (TIPOS DE ILUMINAÇÃO)	33
4.2.1 <i>Isochrysis galbana</i> (ISO)	34
4.2.1.1 <i>Isochrysis galbana</i> unidades experimentais com lâmpadas fluorescentes	34
4.2.1.2 <i>Isochrysis galbana</i> em unidades experimentais com lâmpadas LED	35
4.2.2 <i>Chaetoceros muelleri</i> (CM).....	37
4.2.2.1 <i>Chaetoceros muelleri</i> em unidades experimentais com lâmpadas fluorescentes	37
4.2.2.2 <i>Chaetoceros muelleri</i> em unidades experimentais com lâmpadas LED	39
4.2.3 Resultados das análises estatísticas.....	40
4.2.3.1 Resumo dos dados.....	40
4.2.3.2 Resultados dos testes comparativos	42
4.3 DISCUSSÃO	44
5 CONCLUSÃO	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICE 1 – DESCRIÇÃO DO SISTEMA	51
APÊNDICE 2 – CONWAY (WALNE 79	61
APÊNDICE 3 – CONTAGEM DIRETA DE CELULAS	62
APÊNDICE 4 – ROTINAS APLICADAS PARA OS TESTES ESTATÍSTICOS	64

1 INTRODUÇÃO

As microalgas são micro-organismos capazes de realizar fotossíntese, podendo ser encontrados em vários ambientes aquáticos da Terra. Por décadas, eles têm sido usados como ingredientes suplementares em alimentos humanos, ração animal e produtos nas indústrias farmacêutica e cosmética (BRASIL, 2016). A produção de microalgas é o aspecto mais recente e crescente do cultivo de algas. De 2004 a 2013, a produção global anual de biomassa de microalgas triplicou para 15.000 toneladas/ano (peso seco), para alcançar maior produtividade nos cultivos de microalgas, e que esses sejam rentáveis, é de vital importância a seleção adequada do modo de cultivo (BRASIL, 2016).

Entre a importância de se cultivar microalgas como as *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri*, podemos destacar seu uso na aquicultura e seu valor nutritivo, na cadeia alimentar, onde assume particular a produção desta biomassa, inclusive considerada o maior gargalo no cultivo em viveiro de moluscos (PERSOONE; CLAUS, 1980). Nos sistemas de produção de animais aquáticos, as microalgas são utilizadas como alimento de duas formas, sendo elas: direta, quando o animal de interesse se alimenta das próprias microalgas, como o caso das larvas ou até mesmo os adultos de moluscos bivalves; e indireta, quando os animais não são capazes de se alimentar das diminutas microalgas, mas podem consumir outros animais pequenos alimentados com microalgas, como rotíferos, artêmias e micro crustáceos (LOURENÇO, 2006).

Ao se estimar a abundância dos cultivos de microalgas por meio de contagem de células em microscópio utilizando-se, por exemplo, câmaras de Neubauer, outros parâmetros auxiliares podem ser considerados, como avaliação da morfologia celular, porcentagem de células em divisão e seu tamanho. O monitoramento do crescimento das microalgas em intervalos regulares por meio da contagem de também ajuda a identificar diferentes estágios de desenvolvimento, para se determinar a taxa de crescimento, e até para prever a densidade celular que deve ser alcançada dentro de um determinado período de tempo (LOURENÇO, 2006).

Recentemente, cultivos de algumas espécies de microalgas têm sido realizada em um dispositivo específico, conhecidos como fotobiorreatores, projetado para atingirem alta produtividade. O inóculo é feito em um sistema fechado, sob a forma de painéis planos ou espirais, de serpentina, ou ainda em cilindros de plásticos,

vidro ou policarbonato. Em um fotobiorreator é possível controlar as condições de crescimento (por meio do controle das concentrações de nutrientes, temperatura, luz, pH, etc.), com o objetivo final de alcançar uma maior produtividade, tornando a produção comercial destas microalgas economicamente interessante, sobretudo quando aliada à produção de compostos de alto valor agregado (DERNER et al., 2006). Entre os fotobiorreatores disponíveis, o do tipo bolsa suspensa traz o conceito de bolsa de uso único para o campo de pesquisa da tecnologia de fotobiorreatores. O saco de suspensão com aspersor e dimensões modificados melhora a produtividade da biomassa de microalgas, demonstrando o potencial de um sistema simples e de baixo custo para o cultivo de microalgas (CUI; PURTON; BAGANZ, 2022).

O grande ponto a favor da produção de microalgas é a produtividade, maior do que a de qualquer espécie conhecida (BRASIL, 2016). Quando a cultura de microalgas é exposta a alterações na intensidade de luz e temperatura, a resposta adaptativa é muito mais rápida do que em plantas superiores. Uma melhor compreensão desses parâmetros e a capacidade de monitorar essas condições irão proporcionar aos produtores um melhor conhecimento sobre como otimizar o crescimento e melhorar a produtividade (FORTES, 2015).

Na cultura de microalgas no modo fotoautotrófico, os fótons de luz são indispensáveis como fontes de energia para o crescimento das células. Durante o processo da fotossíntese, os fótons de luz são convertidos em energia eletroquímica, utilizada para conversão de nutrientes inorgânicos, em matéria orgânica. Deste modo, as propriedades da fonte de luz, como comprimento de onda e intensidade, são definitivamente críticas para o crescimento de microalgas fotoautotróficas (WANG; FU; LIU, 2007). Uma das possíveis fontes de aumento da produtividade no cultivo de microalgas, portanto, é por meio de uma iluminação mais eficiente e sustentável.

As lâmpadas fluorescentes são geralmente fabricadas a partir de tubos longos de vidro contendo vapor de mercúrio a baixa pressão com uma pequena quantidade de um gás inerte, por exemplo argônio (CARVALHO ET AL., 2011). As lâmpadas de diodo emissor de luz (LED's; light-emitting diodes) comparando com as lâmpadas fluorescentes, têm: um maior tempo de vida, um menor consumo de energia, uma menor geração de calor, uma maior tolerância para ligar e desligar e, ainda, conseguem reduzir o stress de iluminação excessiva na vida das microalgas (CHEN ET AL., 2011; KOC ET AL., 2010). Contudo ainda não está claro os efeitos dos

compostos utilizados na fabricação das lâmpadas LEDs no meio ambiente e na saúde humana.

Geralmente nos laboratórios de produção de microalgas são utilizadas lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia, pois as mesmas simulam a radiação nos comprimentos de onda entre 350 e 700 nm, que são necessários para a realização da fotossíntese, que contempla os comprimentos de ondas de 400 a 700 nm (LOURENÇO, 2006). Entretanto, as lâmpadas fluorescentes (LF) causam sérios problemas ambientais e à saúde humana. Este fato se deve à presença de mercúrio em sua composição, que, se descartado de forma inadequada, pode levar à contaminação do solo, ar e água, causando toxicidade aos organismos expostos. Por outro lado, as lâmpadas LED, além de possuírem maior vida útil, proporcionando maior brilho, sem poluição ao meio ambiente (SUHAIMI; VAZQUEZ; MORAIS, 2019).

Diante desse cenário, é importante avaliar a fonte de iluminação na produção de microalgas que seja mais eficiente, sustentável e econômico com relação aos tipos de lâmpadas usados nos fotobiorreatores do tipo bolsas suspensas voltados à produção de microalgas, buscando-se aliar medidas de alto desempenho de produção destes microrganismos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a taxa de crescimento de *Isochrysis galbana* e de *Chaetoceros muelleri* cultivadas com iluminação de lâmpadas LED e fluorescente em fotobiorreator.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

(i) avaliar o funcionamento do fotobiorreator de bolsa suspensa em um pré-teste (PILOTO), com diferentes espécies de microalgas.

(ii) avaliar a influência das lâmpadas LED e fluorescente na concentração celular do cultivo de *Isochrysis galbana* e de *Chaetoceros muelleri*;

(iii) avaliar a influência das lâmpadas LED e fluorescente na taxa de crescimento exponencial do cultivo de *Isochrysis galbana* e de *Chaetoceros muelleri*;

(iv) avaliar a influência das lâmpadas LED e fluorescente no pH do cultivo de *Isochrysis galbana* e de *Chaetoceros muelleri*;

(iv) avaliar a diferença de crescimento de *Isochrysis galbana* e de *Chaetoceros muelleri* sob iluminação de lâmpadas LED e Fluorescente em cultivos de bolsas suspensas;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Engenharia em Malacocultura (LEMAqui) do curso de Engenharia de Aquicultura, sediado em Pontal do Paraná (PR) no *Campus* do Centro de Estudos do Mar (CEM), da Universidade Federal do Paraná. Esta pesquisa prática foi realizada em duas etapas. A primeira etapa consistiu em um experimento piloto (experimento I), referente a uma análise de funcionamento do sistema (fotobiorreator com bolsas suspensas) executada durante o mês de maio de 2022, antes do experimento principal. A segunda etapa consistiu do (experimento II) para avaliação do efeito dos tipos de iluminação sobre o crescimento de microalgas selecionadas, foi realizado entre os meses de junho e julho de 2022.

As microalgas selecionadas para a avaliação do sistema (experimento I) foram: *Isochrysis galbana* (ISO), *Nannochloropsis oculata* (Nano); *Phaeodactylum tricorutum* (PT); *Tetraselmis suecica* (TS); *Rhodomonas salina* (RH); e *Pavlova lutheri* (PAV). Para o experimento II, foram utilizadas as espécies *Chaetoceros muelleri* (CM) e *Isochrysis galbana* (ISO). Todas as espécies foram obtidas a partir de cultivos monoclonais do banco de cultivo de microalgas do Laboratório de Microalgas (LAMIC/CEM/UFPR), de onde as mesmas foram repicadas em tubos de ensaio no dia 05 de abril de 2022.

3.1 ESTRUTURA

Todas as microalgas deste experimento foram cultivadas em fotobiorreatores verticais com bolsas cilindro cônicos (volume útil de 30 L) de polipropileno (350 µm de espessura), vedadas duplamente (lacradas na parte superior e inferior), sendo cada bolsa uma unidade experimental (UE). Ao todo, foram utilizados 18 bolsas, sendo 6 bolsas para o experimento I e 12 para o experimento II. Sensores de temperatura foram utilizados, com alteração de padrão (descrito na primeira seção de cada etapa). Todas as UE foram aeradas constantemente com auxílio de uma bomba de ar compressor da marca BOYU modelo ACQ-012 a partir de duas entradas com filtros de 0,2 µm a mangueiras de 5 mm em lados opostos, conectadas as bolsas com auxílio de uma pipeta cortada, na parte inferior das bolsas.

Foram instaladas duas unidades de cultivo, uma para teste com lâmpadas LED e outra para teste com lâmpadas fluorescentes. Cada unidade de cultivo, onde

se pode alocar um tratamento (neste caso, diferentes fontes de luz) tem capacidade máxima para abrigar 6 bolsas. As bolsas foram penduradas perpendicularmente à estrutura de sustentação, com auxílio de canos de PVC (25 mm de diâmetro x 40 cm comprimento), onde as bolsas passaram por dentro do tubo de PVC e em seguida foram estabilizadas com auxílio de uma madeira em forma de prisma (FIGURA 1).

Como fonte de iluminação, foram utilizados 2 painéis, sendo um composto de lâmpadas LED e o outro de lâmpadas LF, cada um contendo 12 lâmpadas, sendo dispostas uma sobre as outras com 10 cm de espaçamento entre elas e a 50 cm do chão. Para compor cada painel, foram utilizadas 12 lâmpadas fluorescentes tubulares da marca Philips, modelo TLDRS de 32w, com 120 cm de comprimento, ou 12 lâmpadas LED tubulares da marca Empalux, modelo TL20316 T8 de 20w. Os painéis de lâmpadas permaneceram ligados 24h por dia, separados por uma placa de madeira, evitando que um tipo de iluminação influenciasse na iluminação do outro (FIGURA 1), em um ambiente com temperatura controlada em 20-21 °C.

FIGURA 1 – Fotobiorreator com lâmpadas LED e fluorescentes



FONTE: O autor (2022).

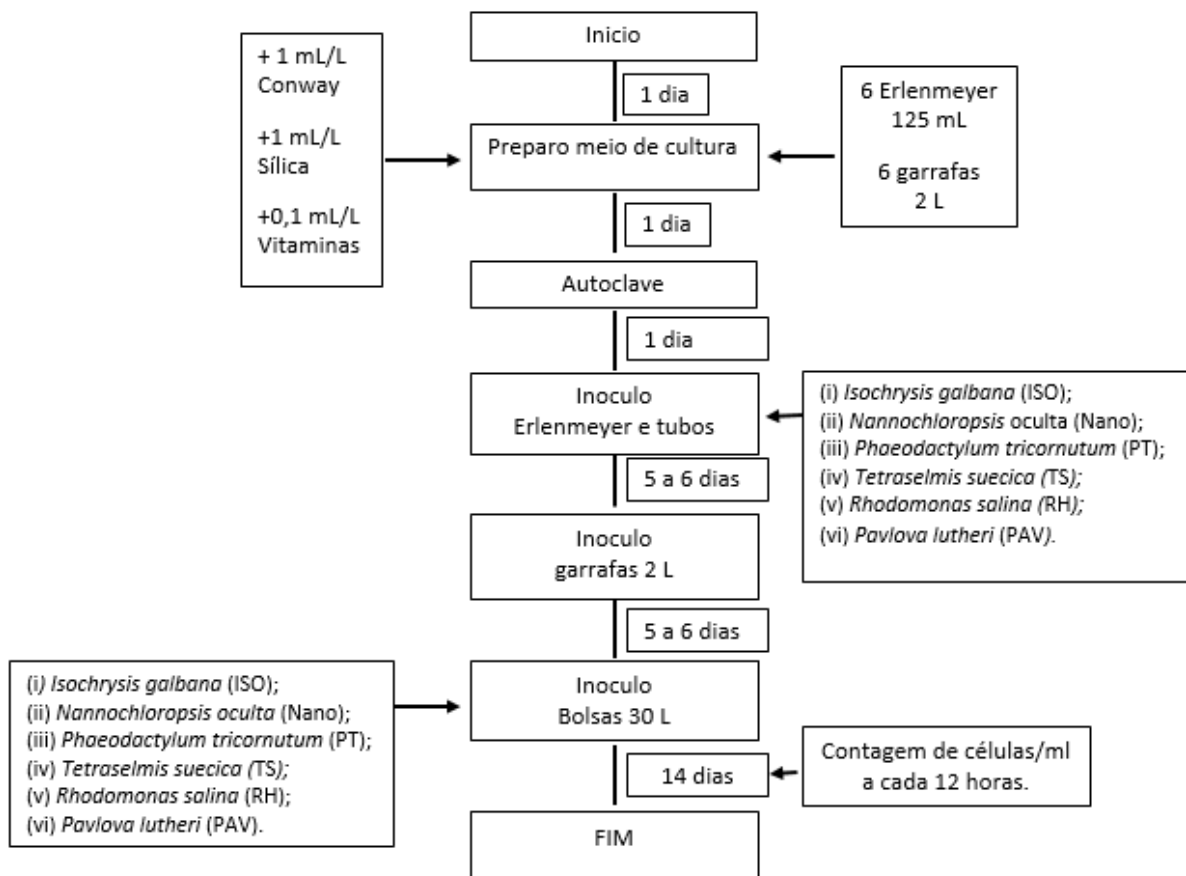
As descrições completas da estrutura do fotobiorreator de bolsassuspensas e do laboratório podem ser encontradas no APENDICE 1 deste documento.

3.2 EXPERIMENTO I (PILOTO)

O experimento piloto foi realizado no mês de maio de 2022, com a finalidade de testar os componentes do sistema e analisar o comportamento de 6 espécies de microalgas, sendo elas: (i) *Isochrysis galbana* (ISO); (ii) *Nannochloropsis oculata* (Nano); (iii) *Phaeodactylum tricornutum* (PT); (iv) *Tetraselmis suecica* (TS); (v) *Rhodomonas salina* (RH); (vi) *Pavlova lutheri* (PAV). Foram mantidas a uma temperatura de 21°C, sob iluminação de lâmpadas Fluorescente de 32w, descritas anteriormente e fotoperíodo contínuo.

Um fluxograma do experimento piloto foi esboçado, para exibição simplificada da metodologia (FIGURA 2)

FIGURA 2 – Fluxograma experimento PILOTO



FONTE: O autor (2022)

A água marinha com salinidade de 29 foi coletada no Centro de Aquicultura Marinha e Repovoamento CAMAR (UFPR), transportada por meio terrestre em galões de água de 20 L até o reservatório do LEMAquí (UFPR-CEM), e posteriormente filtrada por filtros de cartucho de 20 e 5 μm .

Antes do Experimento PILOTO as cepas das 6 espécies de microalgas foram mantidas em Erlenmeyers contendo 125 mL água marinha cada, enriquecida com meio Conway (descrito no APÊNDICE 2). Depois de 120 h, foram repicadas para garrafas de 2 L (FIGURA 3), com água marinha enriquecida com meio Conway. A seguir, as culturas foram transferidas para garrações de 2 L, mantidas em constante movimentação através de suprimento de ar. O método de estimativa de densidade de células utilizado foi a contagem em câmara de Neubauer, descrito no APÊNDICE 3 deste documento.

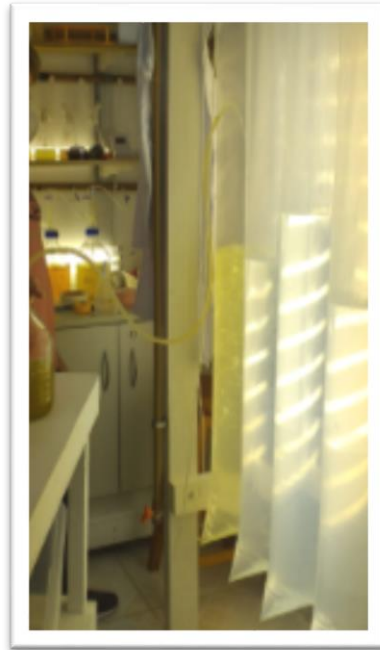
FIGURA 3 – Garrafas contendo os inóculos para o Experimento PILOTO



FONTE: O autor (2022).

O estudo foi realizado em bolsas de polipropileno de 350 μm de espessura, vedado duplamente, com capacidade de 30 L cada, sendo uma bolsa para cada espécie de alga. As bolsas de cada espécie foram distribuídas aleatoriamente no fotobiorreator. Posteriormente, foram utilizados 2 L do inóculo de cada uma das 6 espécies para inocular sua respectiva bolsa de 30 L (FIGURA 4), sendo completado com mais 28 L de água marinha filtrada e enriquecida com meio Conway (1 mL.L^{-1} ; APÊNDICE 2).

FIGURA 4 – Inoculação das bolsas do experimento PILOTO



FONTE: O autor (2022).

Os acompanhamentos para a avaliação do desenvolvimento das culturas das 6 espécies foram feitos por meio de contagens, a partir de 6 horas após a inoculação das garrafas de 2 L, e após de 30 horas após a inoculação das bolsas. O experimento foi finalizado no 14º dia de desenvolvimento da cultura nas bolsas de 30 L, sendo realizadas, diariamente, duas contagens de densidade celular (DC) e leituras do pH.

As densidades celulares médias das seis espécies de microalgas foram calculadas a cada doze horas, a partir da contagem direta de células (células mL⁻¹) com hemacitômetro (câmara de Neubauer) em uma amostra de **1 mL** fixada com uma gota de solução de Lugol, conforme descrito por Lourenço (2006). No final do experimento, a taxa de crescimento específico (TCE) da microalga foi calculada usando a seguinte equação:

$$\text{TCE/dia} = \ln (X_2 - X_1) / (t_2 - t_1) \quad (\text{Eq. 1})$$

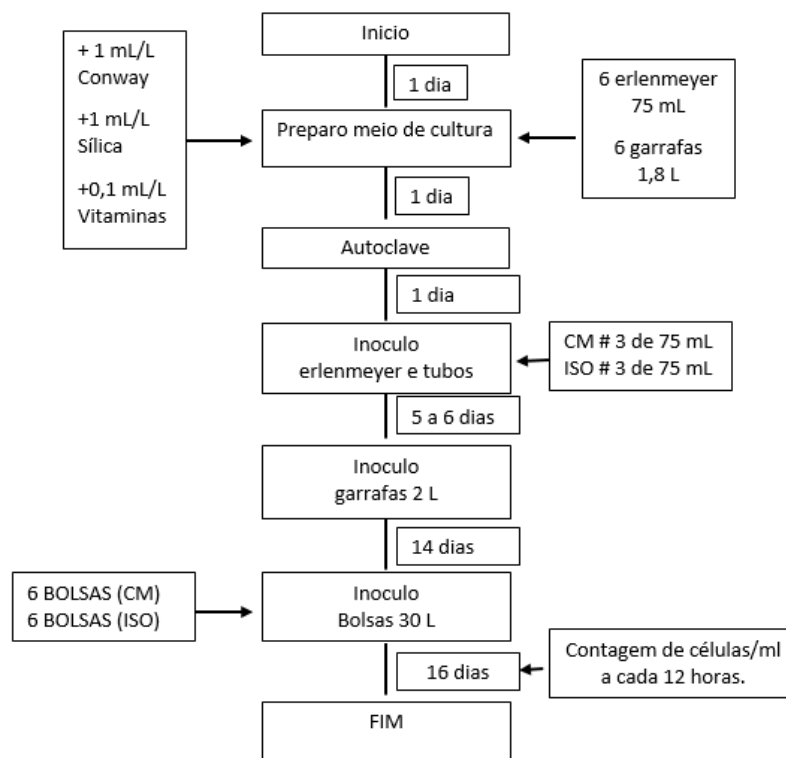
Onde X_1 é a densidade celular no início do intervalo de tempo selecionado; X_2 é a densidade celular no final do intervalo de tempo selecionado; e $t_2 - t_1$ é o intervalo de tempo decorrido (em dia).

Para cada espécie de microalga, foram plotado uma curva de tendência exponencial sobre a curva de densidade celular por tempo de experimento, ajustando a mesma, em que o período de (R^2) ajusta-se seu valor para mais próximo de 1,00 os valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, os dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada espécie, foram esboçados na tabela.

3.3 EXPERIMENTO II (COM DIFERENTES FONTES DE ILUMINAÇÃO)

O estudo foi realizado entre os meses de junho e julho de 2022, utilizando duas espécies de microalgas. As cepas das microalgas *Isochrysis galbana* (ISO) e *Chaetoceros muelleri* (CM) foram mantidas sob temperatura de 21°C, sob iluminação constante de três lâmpadas fluorescentes tubulares de 32W, antes de serem inoculadas em garrafas de 1,8 L, que foram usada posteriormente para iniciar os cultivos finais nas bolsas de 30 L. Um fluxograma do experimento final foi esboçado, para exibição simplificada da metodologia (FIGURA 5).

FIGURA 5 – Fluxograma da metodologia do experimento

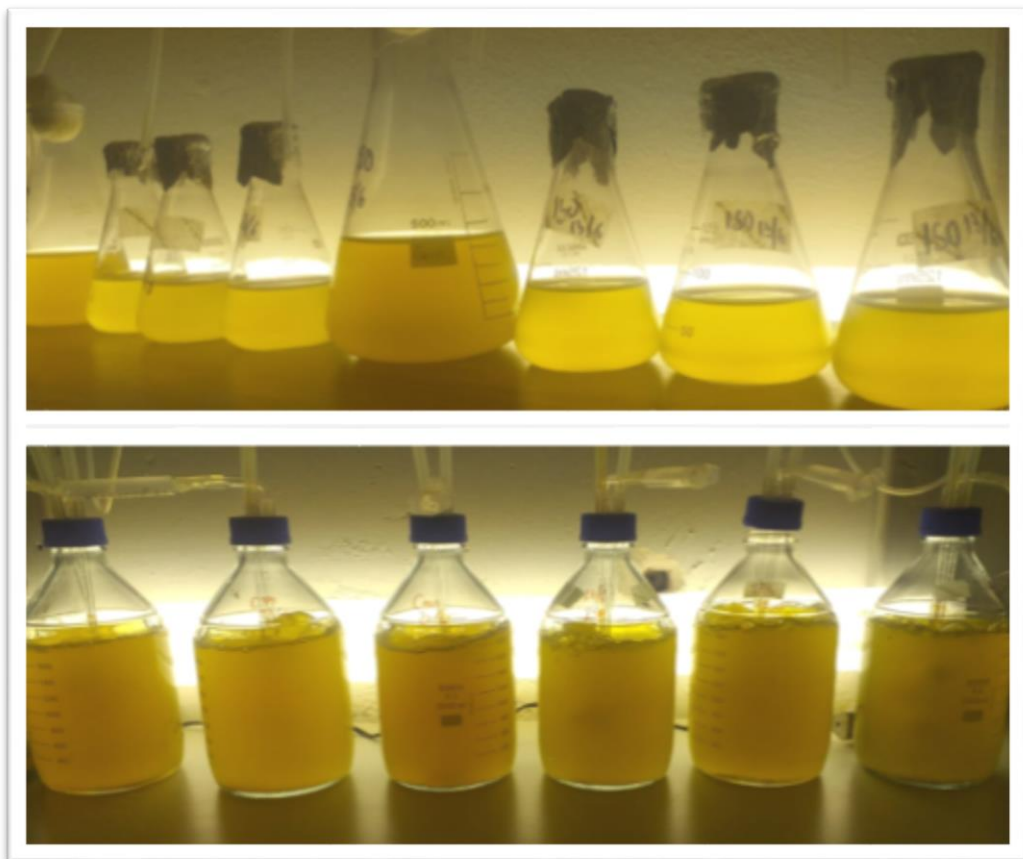


FONTE: O autor (2022).

A água marinha com salinidade de 29 foi coletada no CAMAR (UFPR), transportada por meio terrestre em galões de água de 20 L até o reservatório do LEMAqui da UFPR, abastecendo o laboratório com aproximadamente 400 L de água marinha, que foi posteriormente filtrada por filtros de cartucho de 20 e 5 μm .

As cepas das microalgas *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri* foram repicadas e mantidas por 14 dias em 3 frascos de Erlenmeyers pré-autoclavados cada (FIGURA 6), contendo 75 mL e 1 frasco adicional com 300 mL de água marinha filtrada e enriquecida com meio de cultura Conway (1 mL.L⁻¹; APÊNDICE 2). Em seguida, 115 mL dos cultivos em Erlenmeyer de cada espécie foram utilizados para inocular uma respectiva garrafa de 2 L (FIGURA 6), contendo 1,8 L de água marinha enriquecida com meio Conway (1 mL.L⁻¹). As culturas em garrafas foram mantidas sob constante agitação, nas garrafas de 2 L através de suprimento de ar comprimido por 120h, até que pudessem servir de inoculo para as bolsas de cultivo (FIGURA 7).

FIGURA 6 – Erlenmeyers de 75 e 300 mL e garrações de 2L de *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri*



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: Acima: Erlenmeyers de 75 e 300 mL de *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri*. Abaixo: Garrafas de 2 L de *Isochrysis galbana* e *Chaetoceros muelleri*.

FIGURA 7 – Cultura mantida em constante movimentação, através de suprimento de ar

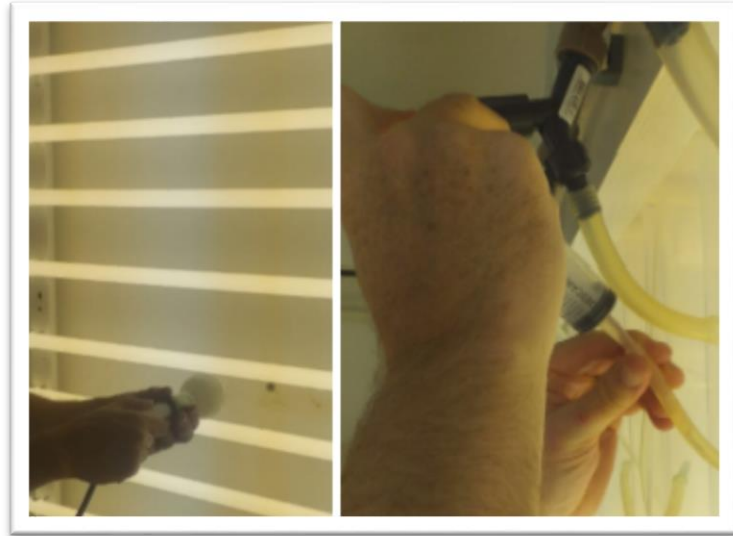


FONTE: O autor (2022).

Antes do fotobiorreator receber as bolsas, foram realizadas medições da intensidade de luz, usando um luxímetro radiômetro LI-COR, LI-250, que fornece uma leitura digital direta da quantidade de radiação fotossinteticamente ativa (PAR; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Foram realizadas medições da irradiância média (ao longo de 15 s) incidente em diferentes pontos do sistema, para se expressar o valor médio em cada unidade experimental (tratamento). As medições foram realizadas entre as lâmpadas 4 e 5 (de cima para baixo), e entre as lâmpadas 7 e 8 de ambos os tratamentos, tanto para as lâmpadas LED quanto para lâmpadas fluorescente, a fim de se comparar a quantidade de luz nesses respectivos pontos (FIGURA 8).

Em seguida, foram utilizados 900 mL da cultura matriz contida nas garrafas de cada uma das 2 espécies para inocular uma bolsa, ou seja, cada garrafa de 2 L inoculou 2 bolsas de 30 L (inóculo com 3,3% do volume total da bolsa), contendo 28 L de água marinha filtrada e enriquecida com meio Conway (1 mL.L^{-1}). As bolsas foram furadas na parte superior, para receber os nutrientes e vitaminas necessária na proporção descrita no APÊNDICE 2 (FIGURA 8).

FIGURA 8 – Teste de intensidade de luz, Adição de Conway

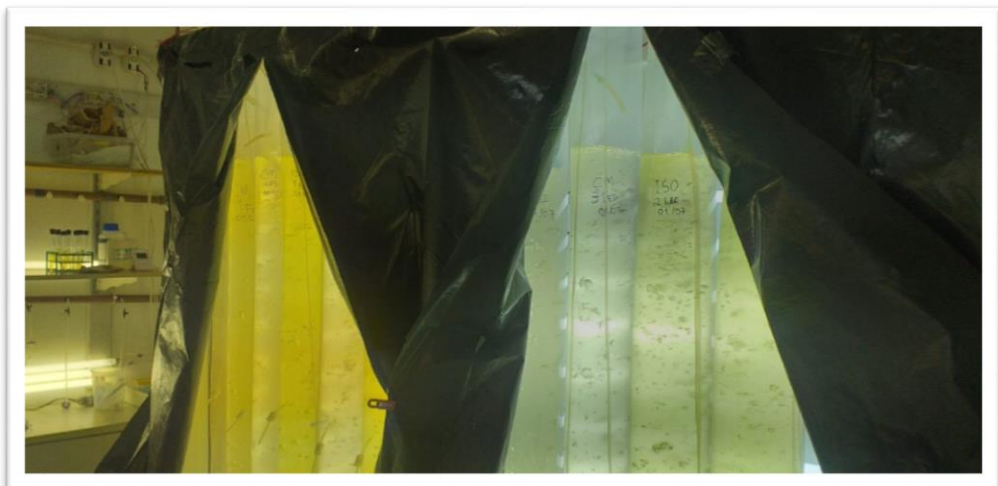


FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: Esquerda: Teste de intensidade de luz, com o aparelho medidor de luz LI-250, direita: adição de meio de cultura Conway nas bolsas

Ao final foram adicionadas espumas nos vãos da divisória entre os dois tipos de iluminação, bem como uma cortina de lona preta na tentativa de que uma fonte de iluminação interferisse o mínimo possível sobre a iluminação concorrente, e para evitar qualquer fonte de iluminação externa àquela do sistema (FIGURA 9). A lona era aberta somente para coleta das amostras a cada 12h.

FIGURA 9 – Isolamento dos tratamentos com lona



FONTE: O autor (2022).

Durante todo o experimento, foram realizadas colheitas periódicas de 12 em 12h, ou seja, as células foram contadas duas vezes por dia, para que fosse possível elaborar uma curva de crescimento com vários pontos de medição ao longo da fase exponencial do cultivo. As coletas foram realizadas durante os 16 dias de cultivo, resultando em 32 amostras para cada uma das 12 bolsas de microalgas. Cada espécie foi inoculada aleatoriamente em 3 bolsas posicionadas em cada um dos painéis com lâmpadas fluorescentes ou lâmpadas LED, resultando na seguinte distribuição:

- (a) 3 cultivos (réplicas) de *I. galbana* expostos a lâmpadas fluorescentes;
- (b) 3 cultivos de *C. muelleri* expostos a lâmpadas fluorescentes;

- (c) 3 cultivos de *I. galbana* expostos a lâmpadas LED brancas;
- (d) 3 cultivos de *C. muelleri* expostos a lâmpadas LED brancas.

O método e o padrão de contagem das amostras encontram-se descritos no APÊNDICE 3 deste documento. Em cada tempo amostral foi registrado o valor de pH e a temperatura de cada bolsa, com o aparelho de medição de pH LUCA-210, versão 8.0, e o microscópio utilizado para as contagens de células foi o Olympus CX40. No final do experimento, a taxa de crescimento específico (TCE) da microalga foi calculada usando a mesma equação descrita na seção anterior (Eq. 1).

Para cada espécie de microalga, foi plotado uma curva de tendência exponencial sobre a curva de densidade celular por tempo de experimento, ajustando a mesma, em que o período de (R^2) ajusta seu valor para mais próximo de 1,00. Para cada espécie, foram geradas visualizações para os valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, os dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}).

A execução dos testes estáticos para comparação entre espécies (CM e ISO) e tratamentos (FS e LED) para as variáveis resposta pH, concentração celular (células.mL⁻¹) e taxa de crescimento exponencial, foram realizados no software R (R Core Team, 2022). Os testes comparativos entre pH e taxa de crescimento exponencial, para os tratamentos (variáveis preditoras), foram realizados através de uma Análise de Variância unifatorial (ANOVA) com nível de significância de 0,05, após

o ajuste dos modelos de ANOVA, foram verificados os pressupostos de cada modelo (homogeneidade variância e normalidade dos resíduos).

Para o teste comparativo da concentração celular, para os tratamentos (variáveis preditoras), foi realizado um teste pareado de Wilcoxon. As rotinas completas utilizadas para realização dos testes comparativos, os coeficientes dos modelos e resultados das análises dos pressupostos, estão disponíveis no APÊNDICE 4. Sendo que as rotinas foram elaboradas seguindo as diretrizes propostas por (Zuur, 2010) para evitar problemas durante as análises estatísticas.

4 RESULTADOS

A TABELA 1 mostra os resultados do teste de intensidade de luz realizado, que antecedeu a instalação das bolsas do experimento, indicando que a intensidade de luz resultante dos diferentes tipos de lâmpada foi semelhante.

TABELA 1 Leitura digital do medidor de luz LI-250

Tratamento	Ponto de teste	Valor medido Lux ($\mu\text{mol.m}^2. \text{s}^{-1}$)
Fluorescente	4 e 5	196,32
Fluorescente	7 e 8	204,0
LED	4 e 5	204,6
LED	7 e 8	207,8

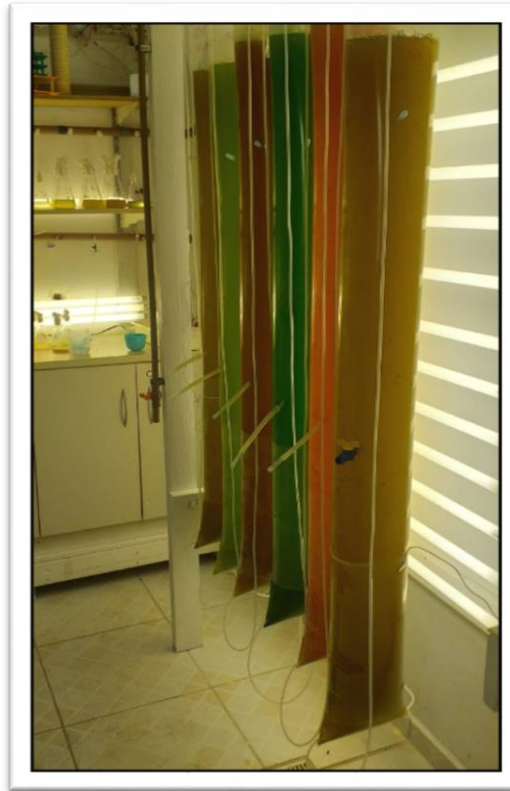
FONTE: O autor (2022).

4.1 EXPERIMENTO I (PILOTO)

Com o experimento PILOTO, foi possível confirmar a viabilidade técnica do fotobiorreator de saco suspenso confeccionado para realização deste estudo. Contudo, as 6 espécies de microalgas responderam de formas distintas à variação da densidade celular (DC) e do pH ao longo do tempo de experimento, conforme ilustrado na FIGURA 10 e descrito a seguir.

Durante o experimento PILOTO, o sistema apresentou uma temperatura média de $20,88^{\circ}\text{C} \pm 0,31$, sendo esta média calculada a partir dos 2 sensores utilizados, que foram colocados na primeira e última unidade experimental, respectivamente a de ISO, (sensor 1) e a de PAV (sensor 2). O sensor 1 indicou um valor de $20,34^{\circ}\text{C} \pm 0,29$, enquanto o sensor 2 apresentou uma média de $21,42^{\circ}\text{C} \pm 0,32$.

FIGURA 10 - Bolsas de cultivo experimento PILOTO com 8 dias



Fonte: O autor (2022).

Para cada espécie de microalga, os valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, os dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada espécie, estão apresentados na TABELA 2.

TABELA 2 - valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada espécie

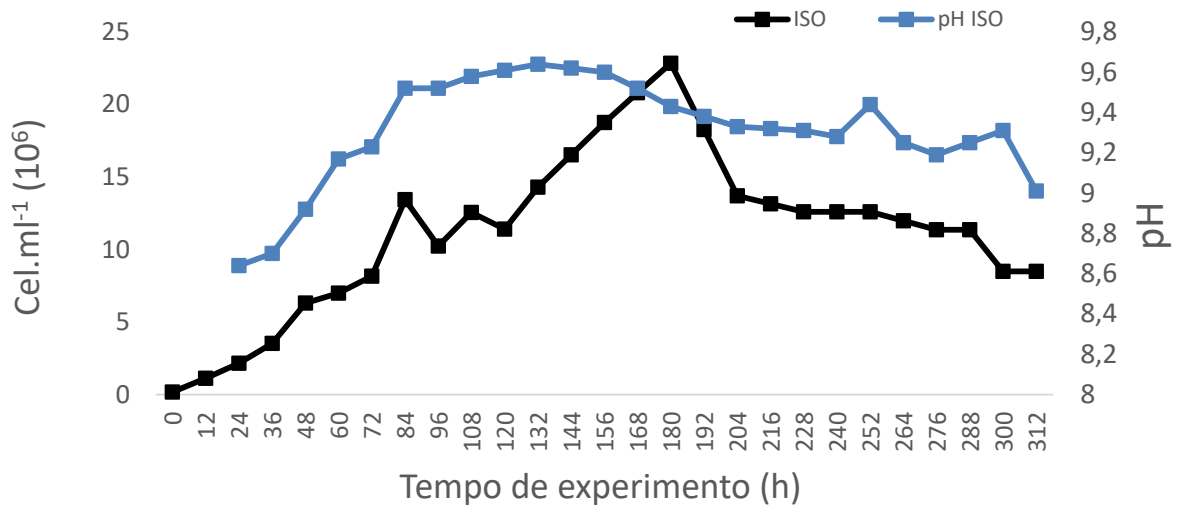
MICROALGA	EQUAÇÃO	R^2	DIAS	μ_{exp}
ISO	$y = 3,8864e^{0,1115x}$	$R^2 = 0,8935$	2 e 7	0,238881
NANO	$y = 3,8925e^{0,2964x}$	$R^2 = 0,9005$	1 e 4,5	0,605174
PH	$y = 8,1285e^{0,11x}$	$R^2 = 0,9461$	2,5 e 5	0,191262
TS	$y = 0,3245e^{0,2672x}$	$R^2 = 0,9185$	2,5 e 4,5	0,49139
RH	$y = 0,1338e^{0,4017x}$	$R^2 = 0,9423$	1,5 e 4	0,838856
PAV	$y = 0,9111e^{0,1567x}$	$R^2 = 0,9233$	8 e 10	0,283027

Fonte: O autor (2022).

A microalga *Isochrysis galbana* (ISO) apresentou densidade celular máxima com 180 horas de cultivo, atingindo $22,85 \times 10^6$ células mL^{-1} e pH máximo com 132 horas de cultivo, atingindo o valor de 9,64. A fase de crescimento exponencial se

estendeu entre 48 e 168 horas de experimento, e uma taxa de crescimento específico de **0,2389 d⁻¹** foi atingida durante este período. (GRÁFICO 1)

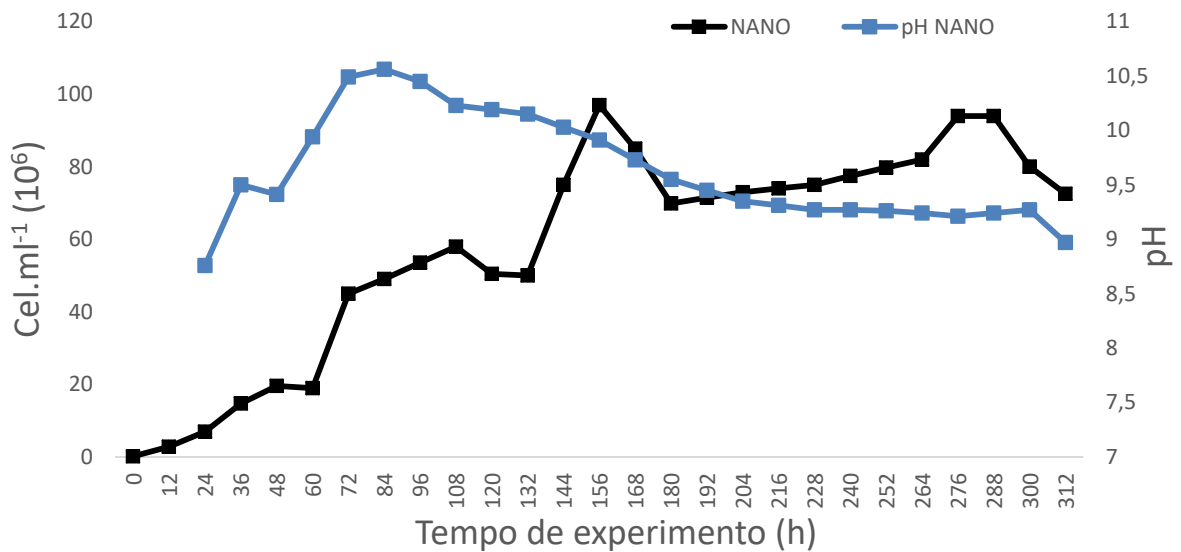
GRÁFICO 1 – Relação entre pH e densidade celular DC (celular / mL x 10⁶) de *Isochrysis galbana* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

A microalga *Nannochloropsis oculata* (NANO) apresentou densidade celular máxima com 156 horas de cultivo, atingindo 97×10^6 células.mL⁻¹, onde o pH máximo (10,56) foi atingido com 84 horas de cultivo (GRAFICO 2). A fase de crescimento exponencial foi alcançada entre 24 e 108 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de 0,6052 durante este período.

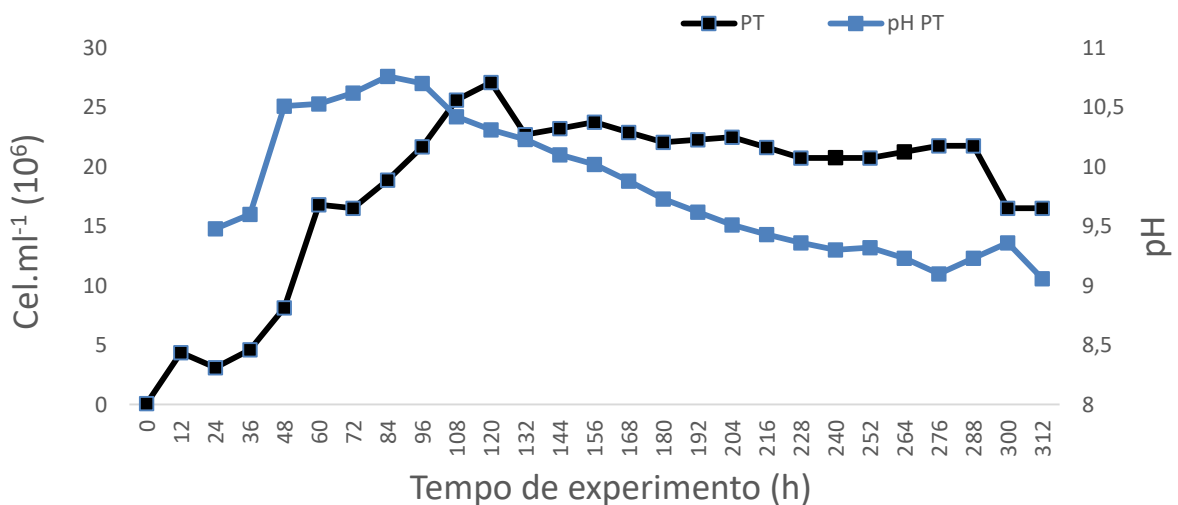
GRÁFICO 2 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL⁻¹ x 10⁶) de *Nannochloropsis oculata* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

A microalga *Phaeodactylum tricornutum* (PT) apresentou densidade celular máxima com 120 horas de cultivo, atingindo 27,1x10⁶ células.mL⁻¹ e seu pH máximo (10,76), foi atingido com 84 horas de cultivo (GRAFICO 3). A fase de crescimento exponencial foi alcançada entre 60 e 120 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de 0,1913 durante este período.

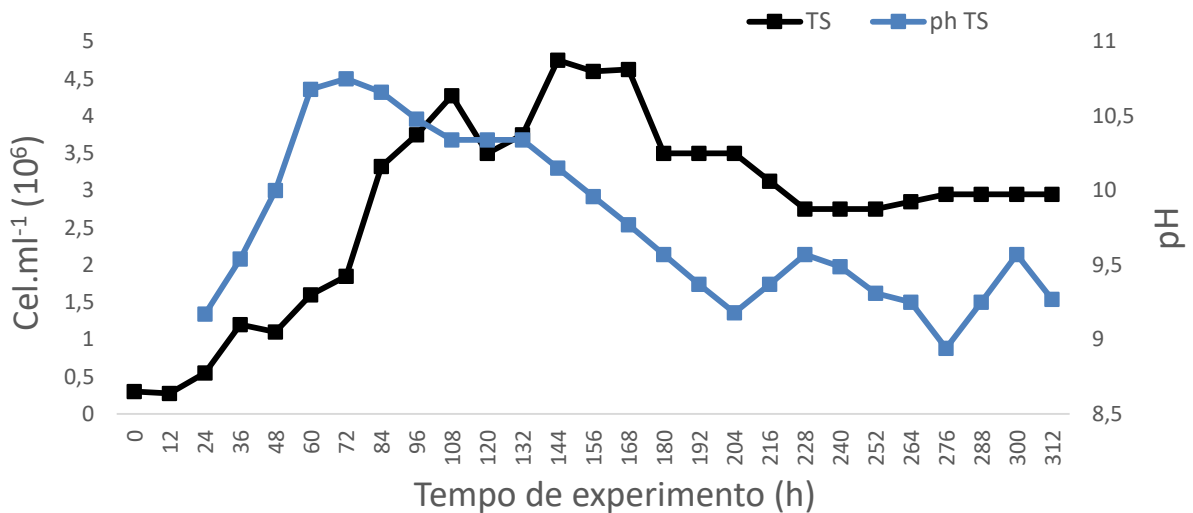
GRÁFICO 3 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL⁻¹x 10⁶) de *Phaeodactylum tricornutum* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

A microalga *Tetraselmis suecica* (TS) apresentou densidade celular máxima com 144 horas de cultivo, atingindo $4,75 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e seu pH máximo, foi atingido com 72 horas de cultivo, atingindo o valor de 10,75 (GRAFICO 4). A fase de crescimento exponencial foi alcançada entre 60 e 108 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de 0,4914 durante este período.

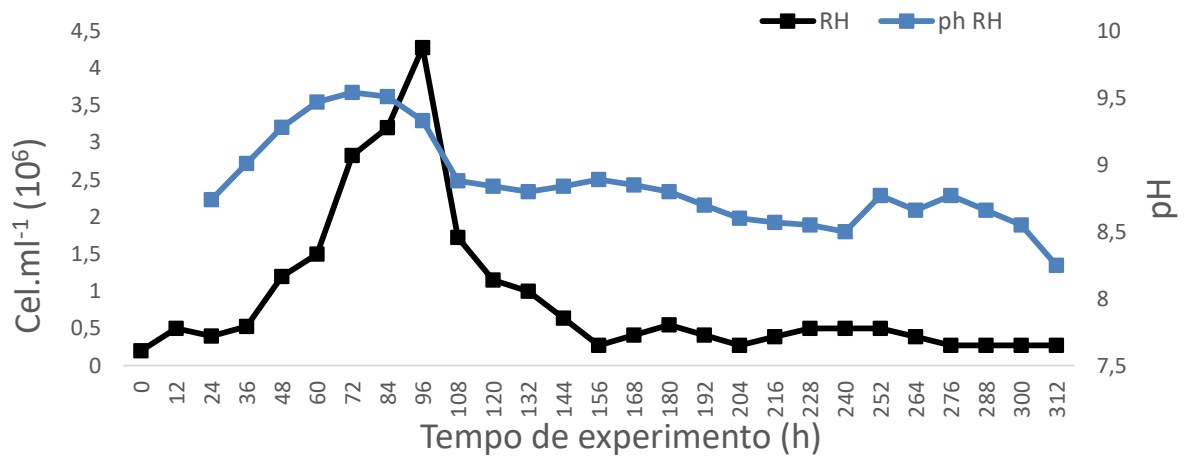
GRÁFICO 4 – Relação entre pH e densidade celular DC (célula.mL⁻¹ x 10⁶) de *Tetraselmis suecica* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

A microalga *Rhodomonas salina* (RH) apresentou densidade celular máxima com 96 horas de cultivo, atingindo $4,27 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e seu pH máximo, foi atingido com 72 horas de cultivo, alcançando o valor de 9,54 (GRAFICO 5). A fase de crescimento exponencial foi alcançada entre 36 e 96 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de 0,8389 durante este período.

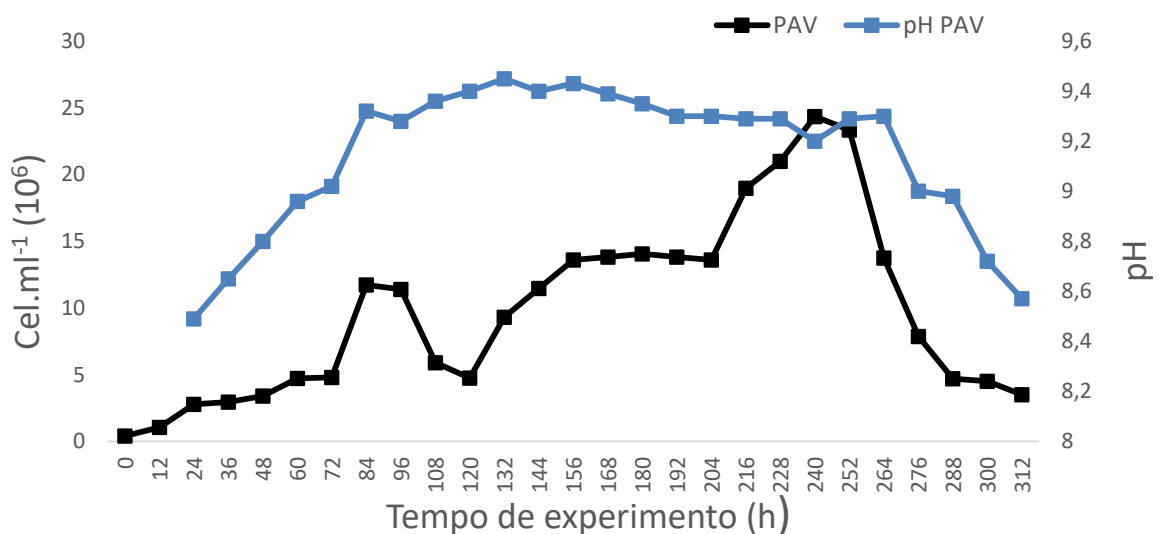
GRÁFICO 5 – Relação entre pH densidade celular DC (célula.mL⁻¹ x 10⁶) de *Rhodomonas salina* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

A microalga *Pavlova lutheri* (PAV) apresentou densidade celular máxima com 240 horas de cultivo, atingindo $24,35 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e seu pH máximo, foi atingido com 132 horas de cultivo, atingindo o valor de 9,45 (GRAFICO 6). A fase de crescimento exponencial entre 192 e 240 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de 0,283 durante este período.

GRÁFICO 6 – Relação entre pH e densidade celular DC (células.mL⁻¹ x 10⁶) de *Pavlova lutheri* por tempo de experimento



Fonte: O autor (2022).

4.2 EXPERIMENTO II (TIPOS DE ILUMINAÇÃO)

Ao final dos 16 dias de experimento, foram obtidos resultados dos dois tratamentos quanto às temperaturas, aos valores de pH médio, máximos e mínimos; Densidades celulares médias e máximas; e taxas de crescimento exponencial específico para ambas as espécies (descritos em 4.2.1 e 4.2.2).

Com a temperatura distintas entre a sala e os tratamentos, onde a sala, manteve uma temperatura média de $19,35^{\circ}\text{C} \pm 1,12$, onde a média das mínima e máxima diária apresentou o valor de $18,2^{\circ}\text{C} \pm 1,78$ e células.mL⁻¹, respectivamente (TABELA 3).

TABELA 3 – Temperatura da sala de experimento

	Temperatura °C
Med	$19,35 \pm 1,12$
Max	$20,5 \pm 1,14$
Min	$18,2 \pm 1,75$

Fonte: O autor (2022).

O tratamento com as lâmpadas fluorescentes apresentou temperaturas médias, máximas e mínimas nos sensores colocados direto nas bolsas (IN) de $20,28 \pm 1,12^{\circ}\text{C}$, $21,23^{\circ}\text{C} \pm 0,703$ e $19,33^{\circ}\text{C} \pm 1,094$, respectivamente, enquanto que no dispositivo (OUT) a temperatura foi registrada na média de $21,11^{\circ}\text{C} \pm 0,799$, $22,13^{\circ}\text{C} \pm ,732$ de temperatura máxima e $20,8^{\circ}\text{C} \pm 1,164$ de temperatura mínima.

TABELA 4 – Temperaturas médias, diárias da unidade experimental com lâmpadas fluorescentes

		Temperatura °C
BOLSA (IN)	Med	$20,28 \pm 0,75$
	Max	$21,23 \pm 0,70$
	MIN	$19,33 \pm 1,09$
AMBIENTE (OUT)	Med	$21,11 \pm 0,79$
	Max	$22,13 \pm 0,73$
	Min	$20,08 \pm 1,16$

Fonte: O autor (2022).

Em relação ao tratamento com as lâmpadas LED, temperatura das médias, máximas e mínimas nos sensores (IN) foram de $19,90^{\circ}\text{C} \pm 0,85$, $21,84^{\circ}\text{C} \pm 0,97$, $19,39^{\circ}\text{C} \pm 1,30$, respectivamente, enquanto que na sala (OUT), a temperatura registrada na média foi de $21,84^{\circ}\text{C} \pm 1,02$, $21,84^{\circ}\text{C} \pm 1,08$ de temperatura máxima e $19,39^{\circ}\text{C} \pm 1,182$ de temperatura mínima.

TABELA 5 – Temperaturas médias, diárias da unidade experimental LED

Temperatura °C		
BOLSAS (IN)	Med	$19,9 \pm 0,85$
	Max	$21,12 \pm 0,97$
	Min	$18,69 \pm 1,3$
AMBIENTE (OUT)	Med	$20,62 \pm 1,02$
	Max	$21,84 \pm 1,08$
	Min	$19,39 \pm 1,82$

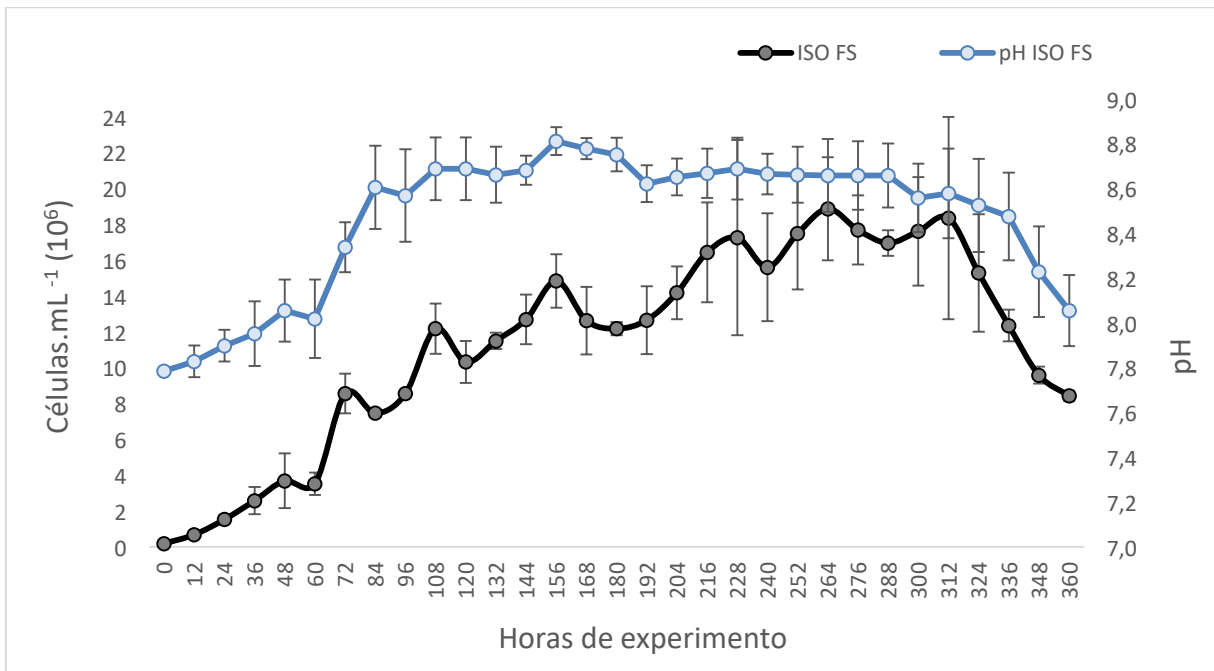
Fonte: O autor (2022).

4.2.1 *Isochrysis galbana* (ISO)

4.2.1.1 *Isochrysis galbana* unidades experimentais com lâmpadas fluorescentes

A microalga ISO no tratamento sob condição de iluminação fluorescente, apresentou densidade celular máxima com 264 horas de cultivo (11 dias de cultivo), atingindo uma densidade celular de $18,98 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e pH máximo com 156 horas de cultivo, atingindo o valor de $8,82 \pm 0,06$ e uma média de $8,47 \pm 0,11$ durante todo o experimento.

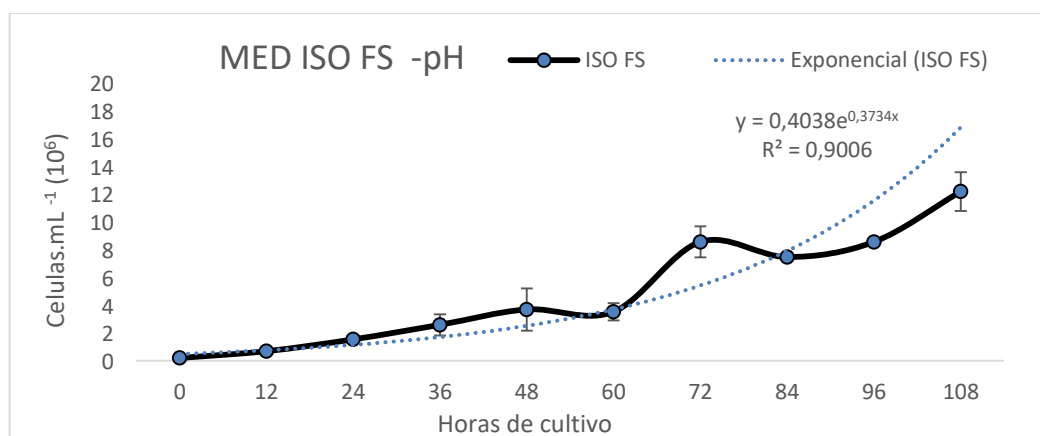
GRÁFICO 7 - Relação entre pH e densidade celular DC em (células.mL⁻¹ 10⁶) de *Isochrysis galbana* sob tratamento de lâmpadas fluorescente por horas de experimento



Fonte: O autor (2022).

As unidades experimentais de ISO sob condição das lâmpadas fluorescente tiveram a fase de crescimento exponencial entre 0 e 108 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de $0,58 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$ durante este período.

GRÁFICO 8 - *Isochrysis galbana*, fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas fluorescente

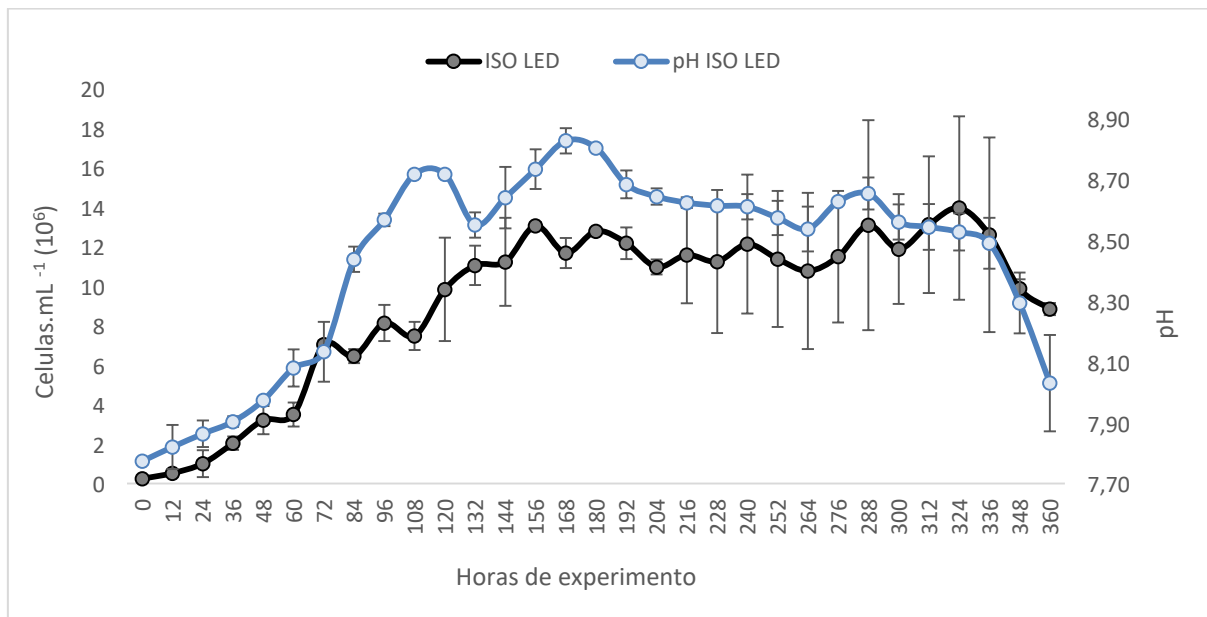


Fonte: O autor (2022).

4.2.1.2 *Isochrysis galbana* em unidades experimentais com lâmpadas LED

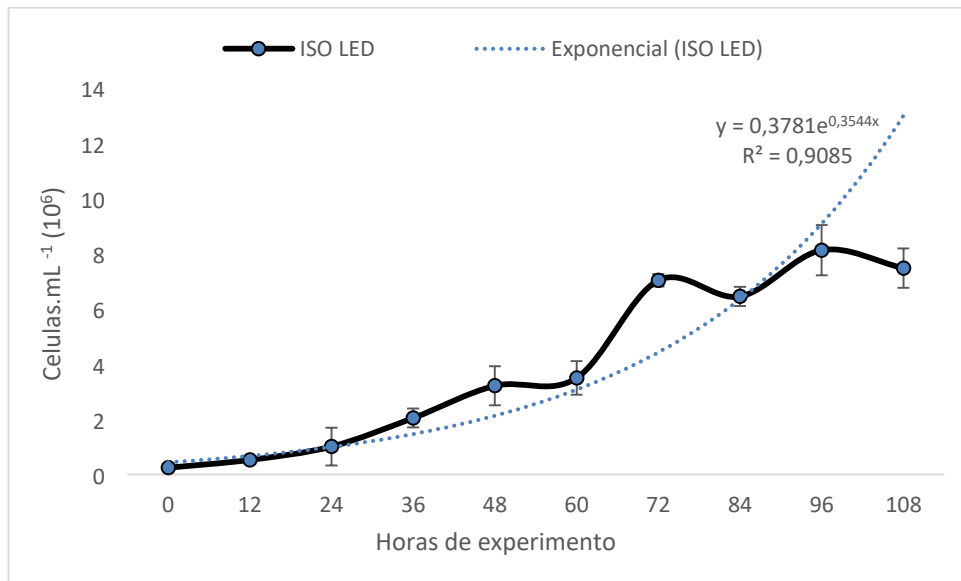
A microalga ISO no tratamento sob condição de iluminação LED, apresentou densidade celular máxima com 324 horas de cultivo (13,5 dias de cultivo), atingindo uma densidade celular de $14,04 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e pH máximo com 168 horas de cultivo, atingindo o valor de $8,83 \pm 0,01$ e uma média de $8,44 \pm 0,03$ durante todo o experimento.

GRÁFICO 9 - Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL⁻¹ (10^6) de *Isochrysis galbana* sob tratamento de lâmpadas LED por horas de experimento



Fonte: O autor (2022).

As unidades experimentais de ISO sob condição das lâmpadas LED tiveram a fase de crescimento exponencial entre 0 e 108 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de $0,48 \pm 0,05$ d⁻¹ durante este período.

GRÁFICO 10 - *Isochysis galbana*, fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas LED

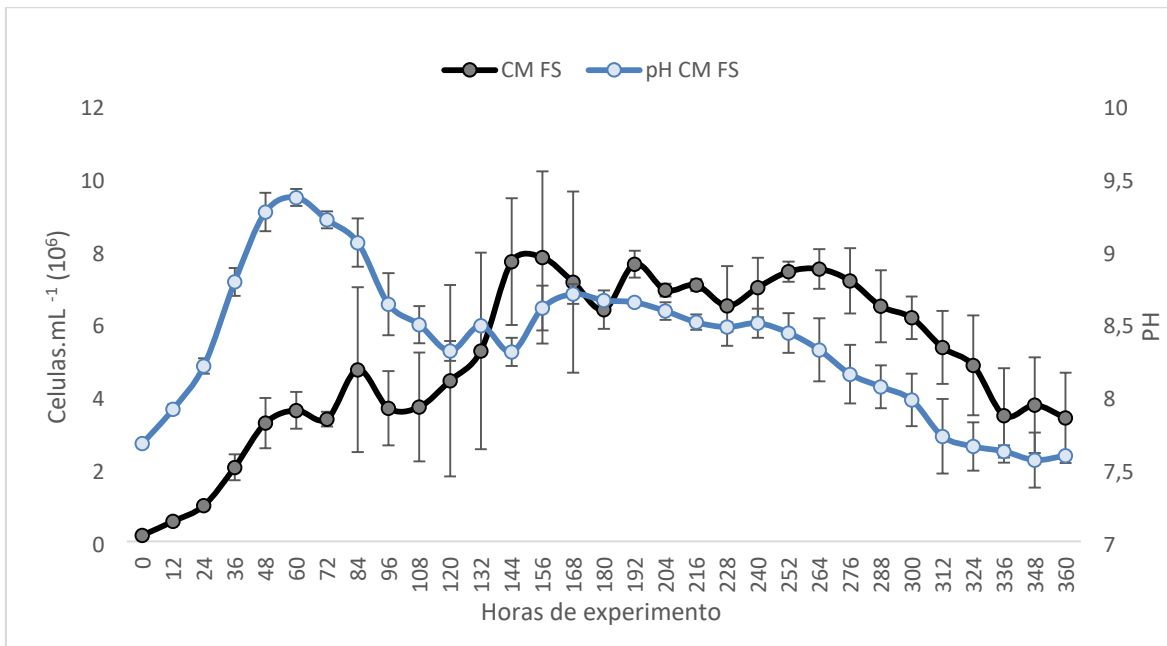
Fonte: O autor (2022).

4.2.2 *Chaetoceros muelleri* (CM)

4.2.2.1 *Chaetoceros muelleri* em unidades experimentais com lâmpadas fluorescentes

A microalga CM no tratamento sob condição de iluminação fluorescente, apresentou densidade celular máxima médio de 156 horas de cultivo (6,5 dias de cultivo), atingindo uma densidade celular de $7,9 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e pH máximo com 60 horas de cultivo, atingindo o valor de $9,39 \pm 0,06$ e uma média de $8,39 \pm 0,04$ durante todo o experimento.

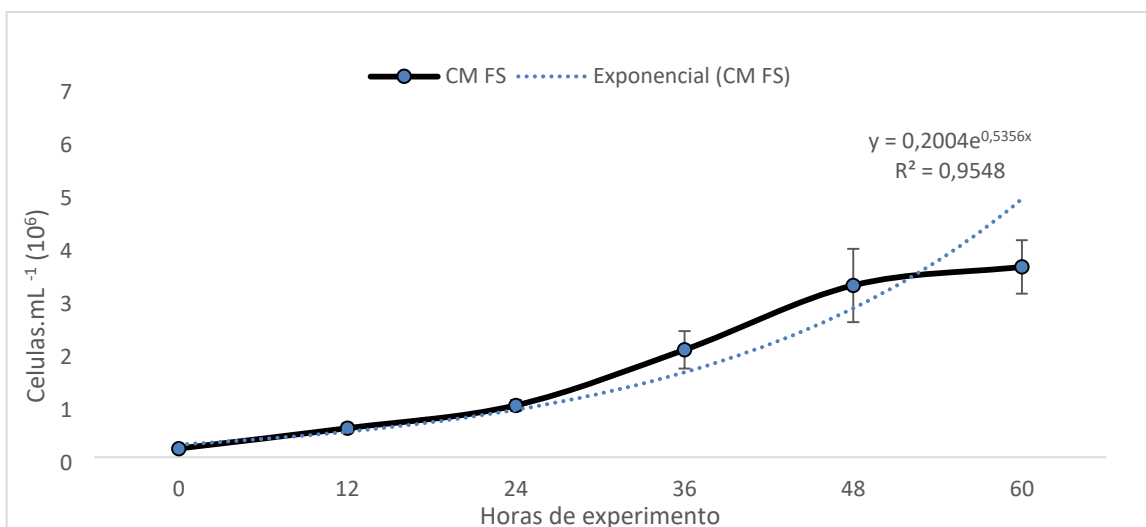
GRÁFICO 11 - Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL⁻¹ (10⁶) de *Chaetoceros muelleri* sob tratamento de lâmpadas fluorescente por horas de experimento



Fonte: O autor (2022).

As unidades experimentais de CM alcançaram a fase de crescimento exponencial entre 0 e 60 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de $0,58 \pm 0,017 \text{ d}^{-1}$ durante este período.

GRÁFICO 12 *Chaetoceros muelleri* fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas Fluorescente

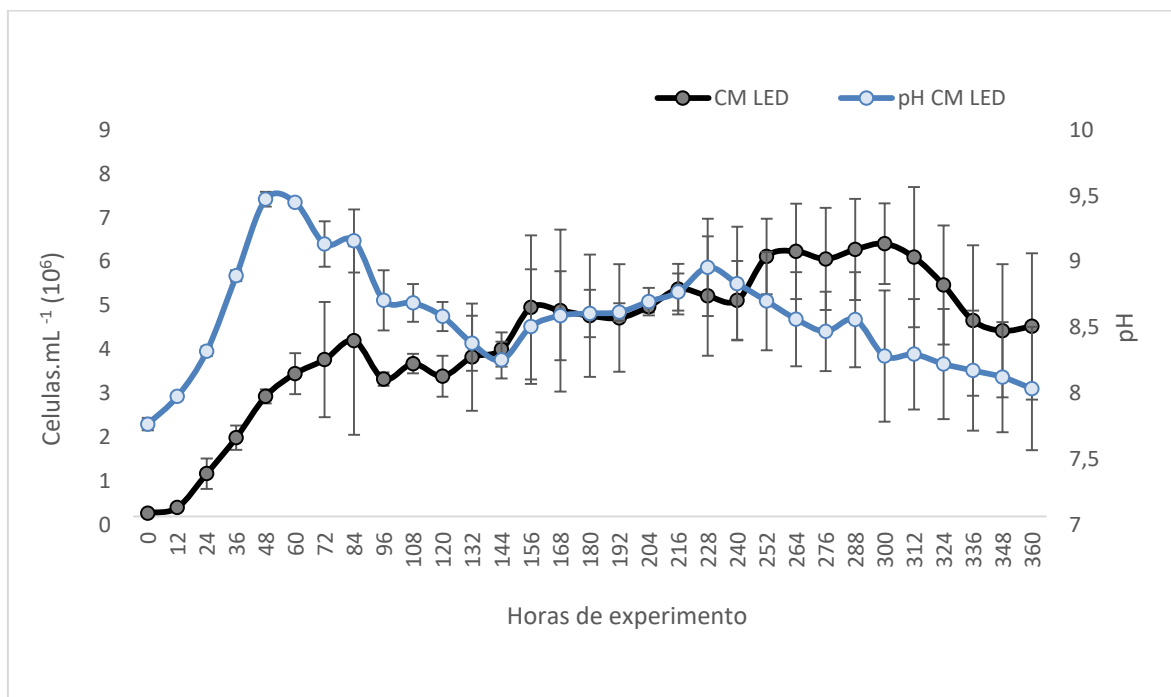


Fonte: O autor (2022).

4.2.2.2 *Chaetoceros muelleri* em unidades experimentais com lâmpadas LED

A microalga CM no tratamento sob condição de iluminação LED, apresentou densidade celular máxima médio de 300 horas de cultivo (12,5 dias de cultivo), atingindo uma densidade celular de $6,4 \times 10^6$ células.mL⁻¹ e pH máximo com 48 horas de cultivo, atingindo o valor de $9,47 \pm 0,0346$ e uma média de $8,57 \pm 0,0152$ durante todo o experimento.

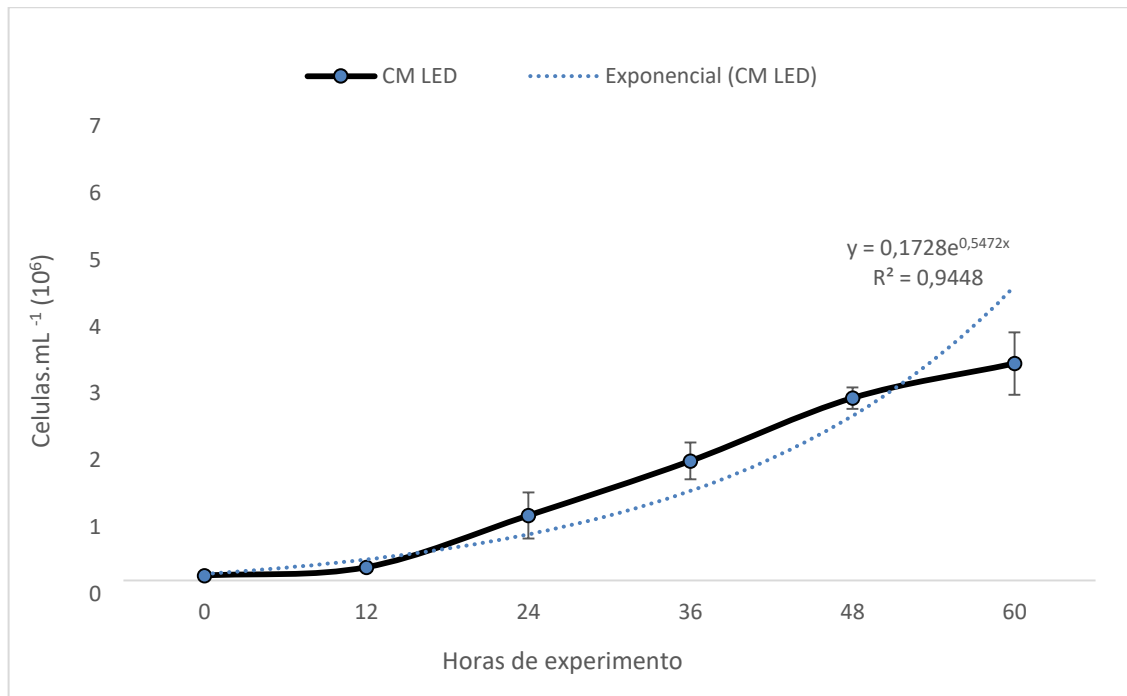
GRÁFICO 13 - Relação entre pH e densidade celular DC em células.mL⁻¹ (10^6) de *Chaetoceros muelleri* sob tratamento de lâmpadas LED por horas de experimento



Fonte: O autor (2022).

As unidades experimentais alcançaram a fase de crescimento exponencial entre 0 e 60 horas de experimento e uma taxa de crescimento específico de $0,56 \pm 0,029$ d⁻¹ durante este período.

GRÁFICO 14 - *Chaetoceros muelleri* fase de crescimento exponencial sob tratamento de lâmpadas LED



Fonte: O autor (2022).

4.2.3 Resultados das análises estatísticas

4.2.3.1 Resumo dos dados

Para cada espécie de microalga, os valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, os dias de experimento e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada espécie, estão apresentados na TABELA 6.

TABELA 6 - valores de R^2 e a equação da linha de tendência exponencial, dias de experimento na fase exponencial e o valor da taxa de crescimento (μ_{exp}), de cada tratamento

TRATAMENTO	EQUAÇÃO	R^2	DIAS	μ_{exp}
Iso_LED	$y = 0,3781e^{0,3544x}$	0,9085	0 e 6,5	0,479264
Iso_FS	$y = 0,4038e^{0,3734x}$	0,9006	0 e 6,5	0,577271
CEM_LED	$y = 0,1728e^{0,5472x}$	0,9448	0 e 4,5	0,560739
CEM_FS	$y = 0,2004e^{0,5356x}$	0,9548	0 e 4,5	0,583931

FONTE: O autor (2022)

Os valores de taxa de crescimento exponencial (μ_{exp}), desvio padrão da taxa de crescimento exponencial (**Std μ_{exp}**), valor máximo das medias (**max med**), media

de células por mL dos tratamentos (**media.cel.mL⁻¹**), desvio padrão da média de células por mL dos tratamentos (**Std cel.mL⁻¹**), pH médio dos tratamentos (**pH med**), desvio padrão do pH médio dos tratamentos (**Std pH**), pH máximo dos tratamentos (**pH max**) e desvio padrão do pH máximo (**Std pH max**), estão plotados na TABELA 7

TABELA 7 - Comparação estatística dos tratamentos

TRATAMENTO	μ_{exp}	Std μ_{exp}	max med	media.cel.mL ⁻¹ ₁	Std cel.mL ⁻¹	pH med	Std pH	pH max	Std pH max
ISO_LED	0,48	0,053	17	9,26	0,492	8,44	0,0338	8,833	0,0416
ISO_FS	0,58	0,066	21	11,5	1,01	8,47	0,119	8,833	0,060
CM_LED	0,56	0,029	6,95	4,28	0,71	8,57	0,152	9,49	0,0346
CM_FS	0,58	0,017	8,81	5,1	0,451	8,39	0,049	9,39	0,062

Fonte: O autor (2022).

Os tratamentos de *Isochysis galbana* teve o pH entre 7 e 8 no início do cultivo, o qual aumentou até o dia 7 chegando a máxima de $8,82 \pm 0,060$ (FS) e de $8,83 \pm 0,014$ (LED), então começaram a baixar seus valores de pH até o término (TABELA 7; GRAFICO 7 E 9). Para *Isochysis galbana*, o valor de pH coincidiu com o aumento e diminuição na concentração de densidade, o que não ocorreu com a *Chaetoceros muelleri*. Por outro lado, o pH de ambos tratamentos de *Chaetoceros muelleri* foi elevado no início do cultivo da microalga e seu valor decaiu ao decorrer do experimento, onde o valor do pH máximo ocorreu entre os dias 2 e 3 experimentos, atingindo o valor de $9,39 \pm 0,0624$ (FS) e $9,47 \pm 0,0346$ (LED), em que seus valores começaram a diminuir ao decorrer do experimento e mantiveram medias semelhantes $8,39 \pm 0,0490$ (FS), $8,57 \pm 0,0152$ (LED)

A *Isochrysis galbana* exposta as LED, registrou a maior densidade celular entre os dias 13 e 14 de $14,03 \times 10^6$ cel.mL⁻¹. Em contraste, o tratamento com lâmpadas fluorescente registrou a maior densidade celular no dia 11 ($18,98 \times 10^6$ células/mL. Sendo uma diferença de $(4,95 \times 10^6$ cél.mL⁻¹) 26,08 %, da densidade celular máxima entre o tratamento LED e fluorescente, em que lâmpadas fluorescentes atingiram esta densidade máxima 2,5 dias antes (TABELA 7; GRAFICO 7 E 9)

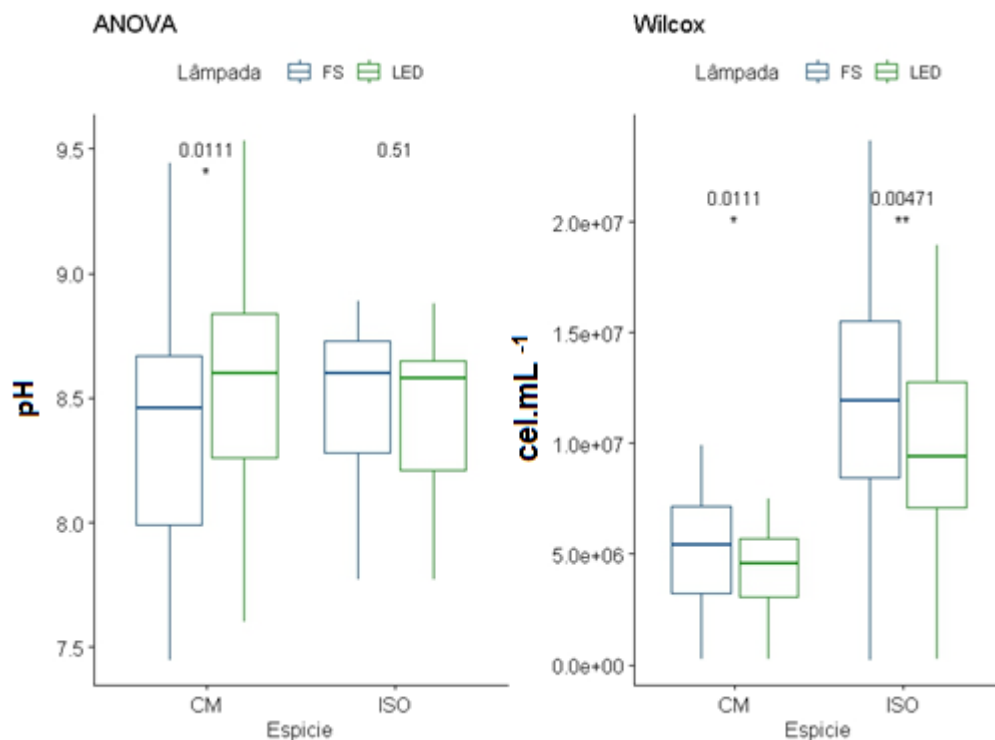
A microalga *Chaetoceros muelleri* exposta as LED, registrou a maior densidade celular entre os dias 12 e 13 ($6,40 \times 10^6$ células.mL⁻¹), respectivamente.

Em contraste, o tratamento com lâmpadas fluorescente registrou a maior densidade celular entre os dias 7 e 8 ($7,9 \times 10^6 \text{ cél.mL}^{-1}$). Sendo uma diferença de ($1,5 \times 10^6 \text{ células.mL}^{-1}$) 18,98 %, da densidade celular máxima entre o tratamento LED e fluorescente, em que lâmpadas fluorescentes atingiram a densidade máxima 5 dias antes do que no tratamento com lâmpadas LED (TABELA 7; GRAFICO 11 E 13).

4.2.3.2 Resultados dos testes comparativos

Os testes comparativos entre os tratamentos (tipos de iluminação e espécies) para as diferentes variáveis resposta (pH, células.mL⁻¹ e μexp), estão apresentados na FIGURA 11 e FIGURA 12.

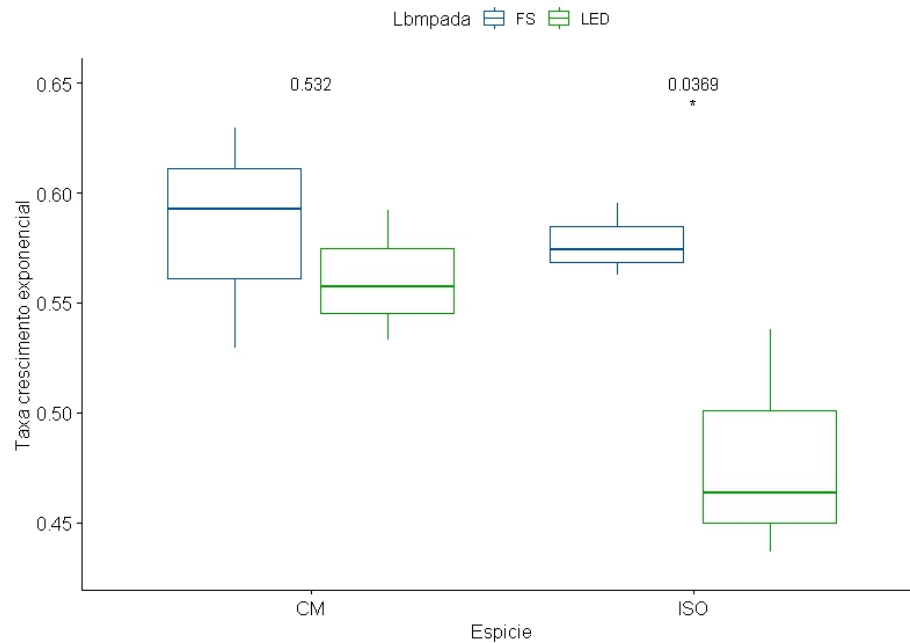
FIGURA 11 - Resultados dos testes comparativos para pH e densidade celular (cel.mL⁻¹)



Legenda: Eixo y pH e cel.mL⁻¹; eixo x espécie (ISO: *Isochrysis galbana*; CM: *Chaetoceros muelleri*); azul: tratamento com lâmpadas FS, verde: tratamento com lâmpadas LED; a comparação entre os tratamento para cada espécie, está representada pelo valor de p, com nível de significância representado por *(p 0,001:***; p 0,01:**; p 0,05:*)

Fonte: O autor (2022).

FIGURA 12 - Resultados do teste comparativos para μ_{exp}
ANOVA



Legenda: Eixo y μ_{exp} ; eixo x espécie (ISO: *Isochrysis galbana* ; CM: *Chaetoceros muelleri*); azul: tratamento com lâmpadas FS, verde: tratamento com lâmpadas LED; a comparação entre os tratamentos para cada espécie, está representada pelo valor de p, com nível de significância representado por *(p 0,001:***; p 0,01:**; p 0,05:*)

Fonte: O autor (2022).

Os pressupostos dos modelos de ANOVA (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos foram cumpridos nas comparações para pH e para μ_{exp} , as comparações para concentração de cel.mL^{-1} , não cumpriram para os pressupostos para anova. Na comparação do pH (FIGURA 11), foi observado uma diferença marginalmente significativa entre os tratamentos para espécie CM, com valores ligeiramente menores para o tratamento FS, para espécie ISO não foi identificado diferença. Na comparação do μ_{exp} (FIGURA 12), foi observado uma diferença marginalmente significativa entre os tratamentos para espécie ISO, com valores menores para o tratamento com lâmpadas LED, para espécie CM não foi identificado diferença

4.3 DISCUSSÃO

O experimento PILOTO mostrou-se satisfatório e eficaz quanto a constatação do funcionamento do fotobiorreator de bolsas suspenso e sua viabilidade de produção das microalgas, sendo este experimento, o primeiro realizado desde a elaboração e construção do fotobiorreator no laboratório LEAMAqui/UFPR elaborado pelo professor Dr. Francisco Lagreze e auxílio de seus orientados, a descrição completa do sistema pode ser analisada no APÊNDICE 1, deste documento

A utilização de (bolsas plásticas) em fotobiorreatores, mostrou eficaz, quanto a capacidade de sua utilização para cultivo de microalga, em que (DA ROSA, 2000) já tinha observado que a utilização da mesma aumentava a luminosidade nas bolsas plásticas facilitando a fotossíntese das microalgas, onde, a utilização das mesmas, possibilitou atender a demanda de alimento dos outros setores, como na produção de semente de ostras, com um menor volume de água, aumento ainda a concentração celular, em algumas das espécies em até três vezes mais e ainda, proporcionava a diminuição no número de dias da cadeia produtiva, pois sendo a microalga alimento da ostra, a utilização de bolsas plásticas, vem acarretar diretamente na qualidade e na diminuição da mortalidade das sementes de ostras produzidas no laboratório.

Podemos observar em outros trabalhos como (ESPINOZA et al. 2002) a *I. galbana* apresentou uma taxa de crescimento de $0,6 \text{ d}^{-1}$, com 120 horas de experimento, o estudo foi realizado utilizando meio de cultura o f/2 Guillard, sobe iluminação lâmpadas fluorescente. Foi constatado uma maior taxa de crescimento para *Chaetoceros sp.* e *Isochrysis sp.*, cujos valores foram de $0,87 \text{ d}^{-1}$ e $0,97 \text{ d}^{-1}$ (RENAUD et al. 2002), valores esse, superiores ao observados no presente estudo, em ambos os tratamentos.

Em relação a densidade celular máxima, quanto o tempo que leva para esta ser atingida, bem como a velocidade de crescimento (OHSE, 2008) afirma que estes parâmetros variam muito, ainda que considerando a mesma espécie, e sob as mesmas condições (temperatura, fotoperíodo, intensidade luminosa, composição do meio de cultura) de cultivo.

Em comparação entre as diferentes iluminações utilizadas nos cultivos de microalgas em fotobiorreator (SUHAIMI, 2021) demonstra que *I. galbana* apresenta maior composição lipídica quando cultivada sob LED amarelo em comparação com a luz fluorescente e possui maior composição de carboidratos quando cultivada sob luz

fluorescente em comparação com o LED azul. Em que os resultados deste estudo provaram que as microalgas podem reagir a diferentes comprimentos de onda de luz. Isso permite que o produtor de microalgas cultive microalgas de acordo com a demanda do mercado.

Em um sistema de equilíbrio químico, onde o CO₂ encontra-se dissolvido em meio aquoso, existem três diferentes espécies químicas possivelmente encontradas em solução, CO_{2(aq)}, H₂CO₃^{*} e CO₃⁻², sendo que a capacidade de utilizar essas fontes de carbono é intrínseca de cada microalga. (CAMERINI, 2012).

O consumo de carbono pela fotossíntese leva a uma mudança nas condições de equilíbrio, aumentando o pH. Esta mudança de pH causa uma redistribuição de carbonos inorgânicos solúveis diferentes presentes (GUTERMAN, BEM-YAAKOV, 1987), dos quais podem ter efeitos adversos no crescimento das microalgas, em que durante o processo da fotossíntese, as microalgas fotoautotróficas, assimilam CO₂ do meio, elevando o pH do meio (DE PAULA, et al 2019)

A provável razão para esta queda no pH, após a fase de crescimento exponencial das microalgas segundo (CUI, PURTON, BAGANZ, 2022), é que quando o crescimento fototrófico diminuiu, o excesso de CO₂ se dissolveu, não podendo ser utilizado para a fotossíntese, então, em vez disso, carboniza o meio.

Lâmpadas fluorescentes emitem um amplo espectro luminoso que varia de 350 a 750 nm, (RAMIREZ MOSQUEDA et al., 2016), e a luz LED branca, compreende um espectro de 460 a 560 nm (FRASZCZAK et al., 2014). Para as plantas autotróficas, a faixa de energia radiante, definida como radiação fotossinteticamente ativa, está entre 400 e 700 nm, e é o maior fator ambiental que controla o seu crescimento e desenvolvimento e as lâmpadas fluorescente compreende toda a faixa necessária. Segundo (BULA et al., 1991; LOURENÇO, 2006) o espectro da fonte de radiação deve atender as exigências da planta para a fotossíntese e o desenvolvimento fotomorfogênico, em que a lâmpada LED branca compreende uma faixa de energia radiante menor que a as lâmpadas fluorescentes.

A vida útil mediana fornecida pelos catálogos de ambas as lâmpadas mostra uma vida estimada para as lâmpadas fluorescente de 12.000 horas, que é um valor com menos da metade, fornecido pelo catálogo das lâmpadas LED branca de 25.000 horas, ou seja, as lâmpadas LED, oferecem uma vida útil maior e conseqüentemente um gasto menor, com reparo e manutenção do sistema, as lâmpadas LED ainda

contam com a vantagem de não ser necessário a instalação de reator para o funcionamento das mesmas.

O controle da temperatura é importante para o cultivo de microalgas, uma sala climatizada de 10m² de área interna e com 3m de altura pode ser facilmente mantida a 20°C com um aparelho condicionador de ar de 12.000 BTU/h² (LORENÇO, 2006). No caso do experimento houve um cuidado especial, fim de manter uma temperatura estável, adequada as dimensões de área útil da sala, que conta com um aparelho condicionador de ar de 9.000 BTU/h² de capacidade térmica, em que o setor do laboratório onde foi realizado o estudo, conta com uma área de 1,64m por 3,90m, totalizando 6.396 m², suficiente para manter a temperatura do local estável.

Em relação ao fotoperíodo do experimento (JACOB, et. al., 2009), avaliaram o crescimento de algas sob diferentes ciclos de luz e 24 horas (noite: dia), respectivamente. Uma redução na produção de biomassa foi observada em paralelo com a redução na duração do período de luz.

O cultivo de microalgas com condições controladas proporcionará um rendimento constante e alto de biomassa, mas novas pesquisas devem continuar tornando-o economicamente viável e aplicável em todo o mundo (AL-QASMI, 2012)

5 CONCLUSÃO

Ao analisar as informações obtidas por meio da aplicação do instrumento de pesquisa, as respostas de ambos os tratamentos indicaram que as lâmpadas fluorescentes atingiram uma densidade celular maior que a atingida pelas lâmpadas LEDs branca em ambas espécies, (ISO) e (CM).

Dessa forma, pode se concluir que as lâmpadas fluorescentes apresentaram um desempenho ligeiramente melhor que as lâmpadas LED branca sobre o crescimento de *Isochysis galbana* e *Chaetoceros muelleri* no fotobiorreator do tipo bolsa suspensa. Apesar disso, os resultados com as lâmpadas LED mostraram-se satisfatórios para ambas as espécies, considerando-se que as lâmpadas LED além de possuírem uma vida útil estimada em mais que o dobro da vida útil de lâmpadas tubulares fluorescentes, não necessitam de instalação de reatores, como no caso das fluorescentes, melhorando sua relação custo-benefício, além do menor risco ambiental representado pelo descarte inadequado das fluorescentes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado agregou conhecimentos necessários para se preencher lacunas a respeito da utilização acerca de lâmpadas fluorescentes e LEDs, e o efeito que cada uma teve no crescimento de *Isochysis galbana* e *Chaetoceros muelleri*, cultivadas em sistema de fotobiorreator, considerando sua capacidade de produção, período de crescimento exponencial, e taxa de crescimento específico de ambas.

Diante do exposto, uma das motivações para a execução desta pesquisa foi, a substituição pelo mercado das lâmpadas fluorescentes, por lâmpadas LEDs, bem como intuito de alinhar a necessidade de saber, a influência que esta lâmpada tem no crescimento de espécimes de microalgas, podendo assim gerar e as competências necessárias para execução na produção dos laboratórios de microalgas.

REFERÊNCIAS

- AL-QASMI, Maryam et al. A review of effect of light on microalgae growth. In: **Proceedings of the world congress on engineering**. 2012. p. 1-7.
- BRASIL, B. S. A. F.; GARCIA, L. Microalgas: alternativas promissoras para a indústria. **Agroenergia Rev**, v. 10, p. 6-11, 2016.
- BULA, R. J^{††} et al. Light-emitting diodes as a radiation source for plants. **HortScience**, v. 26, n. 2, p. 203-205, 1991.
- CAMERINI, Felipe Vieira. Modelagem aplicada ao processo de biofixação de CO₂ por microalgas. 2012.
- CARVALHO, Ana P. et al. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 89, n. 5, p. 1275-1288, 2011.
- CHEN, Chun-Yen et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. **Bioresource technology**, v. 102, n. 1, p. 71-81, 2011.
- CUI, Jing; PURTON, Saul; BAGANZ, Frank. Characterisation of a simple 'hanging bag' photobioreactor for low-cost cultivation of microalgae. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 97, n. 3, p. 608-619, 2022.
- DA ROSA, Fabricia Silva et al. Aplicação de Índice de Performance na Produção de Algas Marinhas Utilizadas na Produção de Sementes de Ostras (*Crassostrea Gigas*). In: **Anais do Congresso Brasileiro de Custos-ABC**. 2000.
- DE PAULA, Maria Célia Cavalcante et al. AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA MICROALGA *Chlorella* sp. EM LIXIVIADO DE ATERRO SANITÁRIO EM SISTEMAS ALIMENTADOS EM BATELADA. 2019.
- DERNER, Roberta Bianchini et al. Microalgae, products and applications. **Ciencia Rural**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 1959–1967, 2006.
- EMPALUX catalogo 2020. Disponível em: <https://empalux.com.br/wp-content/uploads/2020/07/Cat%C3%A1logo-Empalux-2020.pdf/>. Acesso em: 06 ago. 2022.
- FORTES, MARIANA MONTEIRO. FOTOBIOREACTORES PARA O CULTIVO DE MICROALGAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE BODIESEL. **Rio de Janeiro**, 2015.
- FRASZCZAK, Barbara et al. Growth rate of sweet basil and lemon balm plants grown under fluorescent lamps and LED modules. **Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus**, v. 13, n. 2, p. 3-13, 2014.

GUTERMAN, Hugo; BEN-YAAKOV, Sam. Exchange rates of O₂ and CO₂ between an algal culture and atmosphere. **Water Research**, v. 21, n. 1, p. 25-34, 1987.

JACOB-LOPES, Eduardo et al. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 1, p. 306-310, 2009.

KOC, Caner; ANDERSON, Gary A.; KOMMAREDDY, Anil. Use of red and blue light-emitting diodes (LED) and fluorescent lamps to grow microalgae in a photobioreactor. 2013.

LOURENÇO, Sergio O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

OHSE, Silvana et al. Crescimento de microalgas em sistema autotrófico estacionário. **Biotemas**, v. 21, n. 2, p. 7-18, 2008.

PERSOONE, G. et al. Mass culture of algae: a bottleneck in the nursery culturing of molluscs. **Algae biomass**, p. 265-285, 1980.

PHILIPS Catalogo TLDRS. Disponível em:

https://www.lighting.philips.com.br/api/assets/v1/file/PhilipsLighting/content/fp927870003301-pss-pt_br/927870003301_EU.pt_BR.PROF.FP.pdf. Acesso em: 07 ago. 2022

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2022.

RAMÍREZ-MOSQUEDA, Marco A.; IGLESIAS-ANDREU, Lourdes G.; BAUTISTA-AGUILAR, José R. The effect of light quality on growth and development of in vitro plantlet of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Sugar Tech**, v. 19, n. 3, p. 331-336, 2017.

RENAUD, Susan M. et al. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture**, v. 211, n. 1-4, p. 195-214, 2002.

RODRIGUES, Siene de Faria; VAZQUEZ, Gisele Herbst; MORAIS, Josué da Silva. Replacement of fluorescent lamps with light emitting diode (LED) in an educational institution: environmental, energetic and economic concern. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 24, p. 799-808, 2019.

SUHAIMI, Norhayati B. et al. Influence of blue and yellow light-emitting diodes on the lipid and carbohydrate composition of *Isochrysis galbana*. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 7, p. 3226-3232, 2021.

TREVISAN, Elias et al. Avaliação do pH em cultivo de microalga *Chlorella vulgaris*. 2013.

VALENZUELA-ESPINOZA, Enrique; MILLÁN-NÚÑEZ, Roberto; NÚÑEZ-CEBRERO, Filiberto. Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll a content in *Isochrysis* aff.

galbana (clone T-Iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. **Aquacultural Engineering**, v. 25, n. 4, p. 207-216, 2002.

WALNE, Peter Richard et al. **Culture of bivalve molluscs: 50 years' experience at Conwy**. Fishing News Books Ltd., 1979.

WANG, Chih-Yu; FU, Chun-Chong; LIU, Yung-Chuan. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 21-25, 2007.

ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; ELPHICK, C. S. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. **Methods in ecology and evolution**, v. 1, n. 1, p. 3-14, 2010.

APÊNDICE 1 – DESCRIÇÃO DO SISTEMA

Neste apêndice, está descrito partes do laboratório LEMAqui/CEM/UFPR.

O local onde foi realizado o experimento não conta com sistema de captação de água marinha, por tanto o abastecimento se dá através do transporte de água marinha captada e pré-filtrada do (CAMAR-Mirassol) até a caixa de abastecimento do laboratório LEMAqui, transportada em garrações de 20 L.

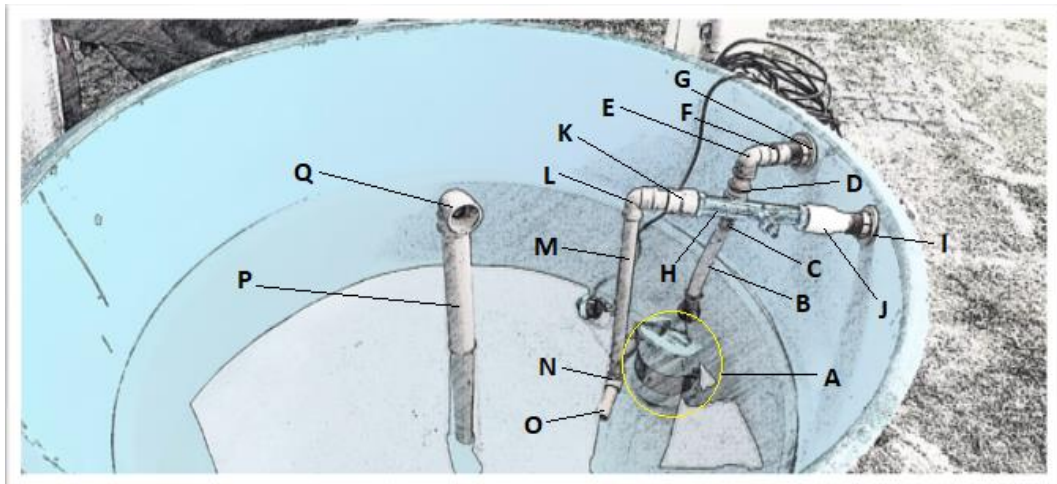
RESERVATÓRIO

Ao chegar no laboratório esta água abastece o reservatório de até 1000L, e este possui um cano pvc 32mm (P) centralizado conhecido como “ladrão” para escape da água excedente. Dentro do reservatório há um sistema de bombeamento para distribuição de água no laboratório (FIGURA 1) este sistema é descrito a seguir

SISTEMA DE BOMBEAMENTO

Para o bombeamento é utilizado uma bomba submersível Lepono (A) LKS 400-P, 110V, com vazão máxima de 9 m³/h, esta bomba é conectada a uma mangueira transparente (B), que por sua vez é ligada a tubulação de canos PVC marrom até a saída da caixa de água utilizando a seguinte sequência de componentes após a mangueira, conexão mangueira/cano (C), união de rosca (D), curva de 90°(E), tubo 32mm (F), flange (G). Ainda dentro da caixa de armazenamento existe um sistema Venturi (H), para oxigenação da água, montado da seguinte forma, Flange (I), conexão de rosca (J), Venturi, conexão de rosca (K), joelho (L) tubo pvc marrom de 32mm (M), joelho (N) e tubo 32mm(O) (FIGURA 1).

FIGURA 1 - Reservatório e sistema de bombeamento, LEMAqui



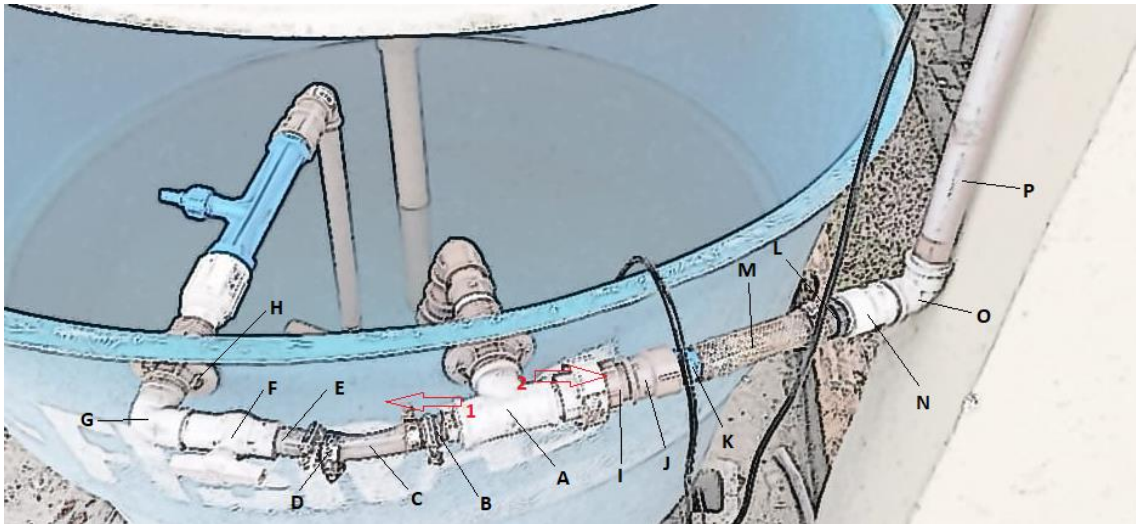
Fonte: O autor (2022).

SISTEMA DE DISTRIBUIÇÃO EXTERNO

Distribuição da parte externa, conectada um T (32mm), distribuindo a água em 2 direções.

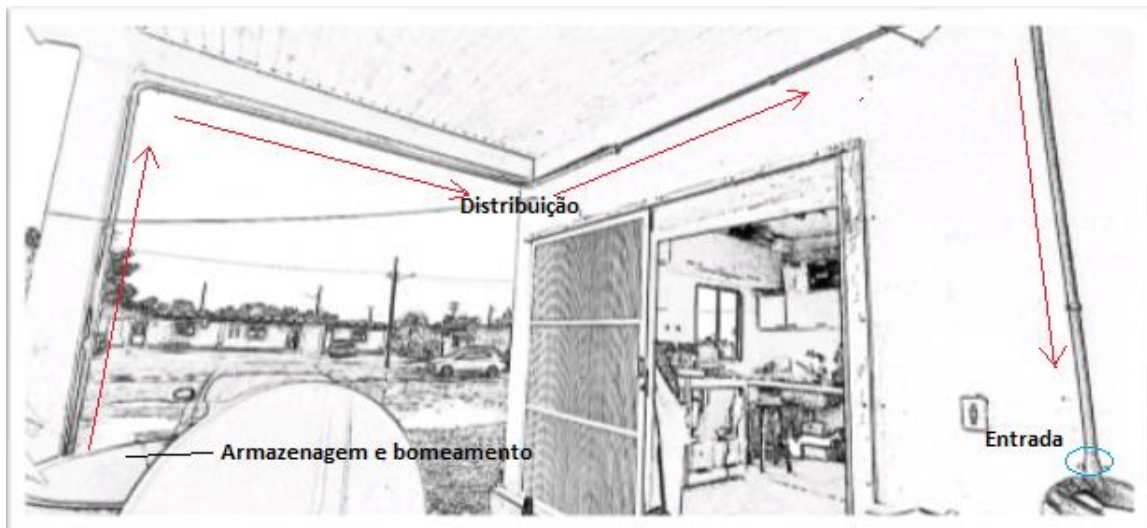
Na direção (1) se sucede a seguinte sequência de peças para montagem da distribuição: T (32mm) (A), redução de (32mm>25mm) e redução (25mm>20mm) (B), mangueira flexível (C), braçadeiras de metal (D), tubo de (20mm) com 6 cm de comprimento (E), registro de (25mm) (F), joelho (25mm) (G), flange (H), por onde a água retorna para dentro da caixa. Na direção (2) outro lado do T (32mm) é conectado por uma união de rosca de (32mm) (I), luva L/R (J), I adaptador de mangueira de (32mm) (K), braçadeiras de metal (L), mangueira (M), luva LR (N), joelho de (32mm) (O), tubo de (32mm) com 2 m de comprimento (P), presa por braçadeiras, parafusadas na parede (Figura 2).que se sucede por uma sequência de tubos que levam a água para a parte interna do laboratório como na (figura 3)

FIGURA 2 - Área externa de distribuição de água salgada



Fonte: O autor (2022).

FIGURA 3 – Tubulação de condução da água externa, para parte interna do laboratório



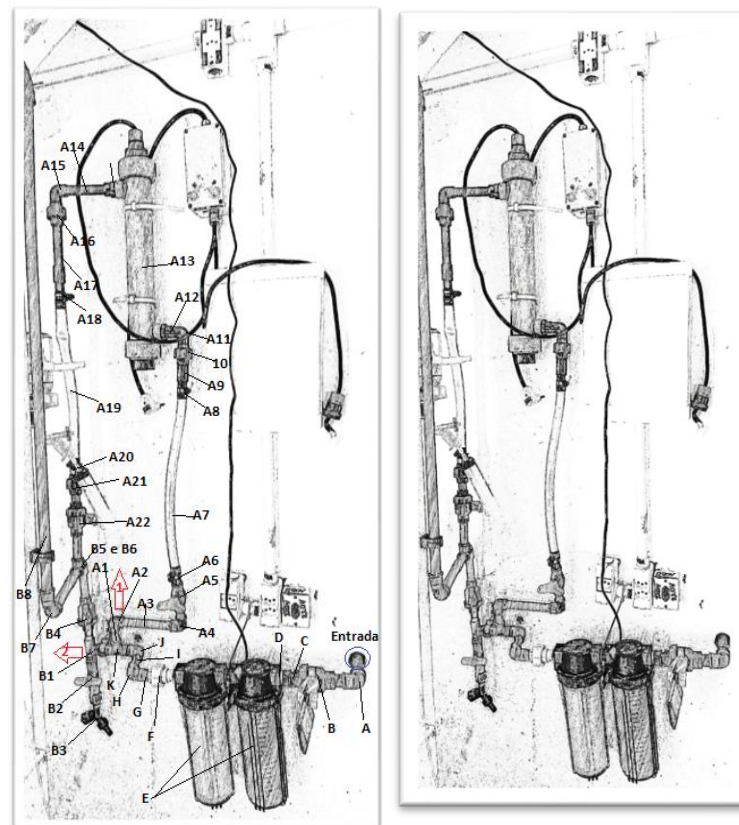
Fonte: O autor (2022).

DISTRIBUIÇÃO INTERNA E SISTEMA DE FILTRAGEM

Já dentro do laboratório a água passa por um sistema de filtragem e distribuição, seguindo por um tubo (25mm) com 40 cm de comprimento atravessando a parede (Entrada), joelho (25mm) (A), registro/união de rosca (25mm) (B), tubo (25mm) 4 cm de comprimento (C), luva LR (D), 2 filtros tipo cartucho (E), união de rosca (25mm>20mm) (F), luva de rosca (20mm) (G), joelho (20mm) (H), tubo (20mm) com 8 cm de comprimento (I), joelho (20mm) (J), tubo (20mm), T de (20mm) (K):

direção 1 : tubo (20mm) com 7 cm de comprimento (A1) , joelho (20mm) (A2) , tubo (20mm) com 16 cm de comprimento (A3) , joelho (20mm) (A4), tubo (20mm) 10 cm de comprimento (A5) , registro (20mm) (A6), adaptador de mangueira flexível (A7), mangueira de (20mm) com 44 cm de comprimento (A8), adaptador de mangueira (A9) , união de rosca (A10) , joelho (25mm) (A11), conexão do filtro (A12), filtro UV (A13), tubo (20mm) com 12 cm de comprimento (A14), joelho (20mm) (A15), união de rosca (A16), tubo e luva (20 mm) (A17),adaptador de mangueira flexível (A18), mangueira flexível (20mm) com 44 cm de comprimento (A19) , braçadeira de metal (A20), adaptador para mangueira (A21), registro/união de rosca (A22), T direção 2 (FIGURA 4).

FIGURA 4 - Distribuição e filtros, interno



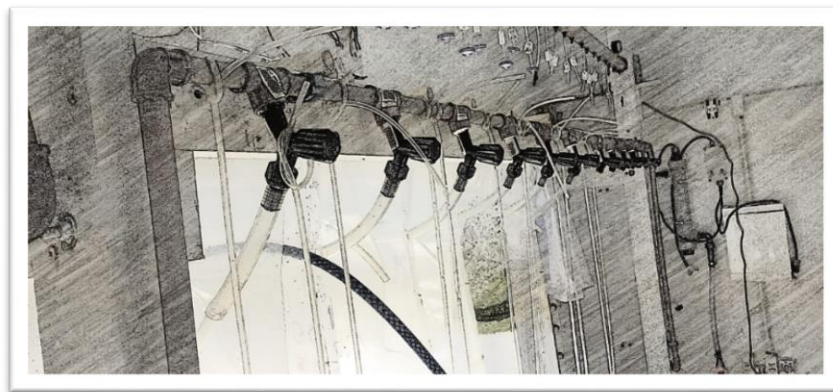
Fonte: O autor (2022).

DIREÇÃO 2 - te (B1), registro 20 mm (B2) e torneira (B3), lado 2 -, registro/ união de rosca (B4), joelho 20mm (B5), T 20mm (B6), curva 20mm (B7), Tubo 20mm (B8) a

partir daí a água é distribuída em um sistema de torneiras, dispostas da seguinte forma:

Linha de torneiras com 12 torneiras (A), 12 TE's com espaçamento de 20cm entre eles (B) com exceção das torneiras 6 e 7 que tem 30cm no intervalo do espaçamento, os espaçamentos entre os TE's estão conectados com tubos de 20mm com 20cm cada, cada torneira tem na ponta uma mangueira de 20mm com 15cm de comprimento (C), no fim uma pipeta cortada na ponta para conectar á bolsa (D), essa linha de torneira é presa à estrutura de sustentação, com presilhas parafusadas na madeira conforme a figura 5 a seguir

FIGURA 5 - Linha de tubulação para abastecimento das bolsas



Fonte: O autor (2022).

Após a linha, joelho de 20mm, tubo de 20mm 1,24cm, e um registro de 20mm, para esvaziar a tubulação.

SISTEMA DE AERAÇÃO

O sistema de aeração consiste de um soprador de bomba de ar compressor da marca BOYU modelo ACQ-012, onde um cano central localizado na parte superior ao sistema de dimensões (0,2 μ m) é responsável por abastecer todas as bolsas a partir de 2 mangueiras 5 mm, conectadas deste cano central de fornecimento, até nos lados opostos da parte inferior de cada bolsa.

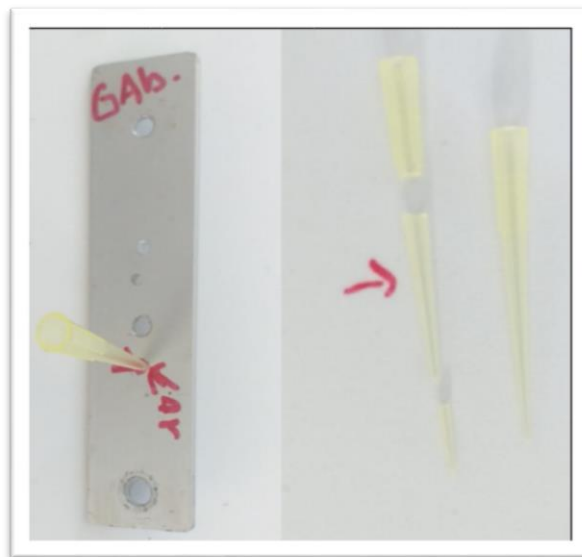
Este modelo de aeração, onde o ar entre nas bolsas de baixo para cima fornecendo uma dinâmica de movimentação na coluna d'água, faz com que as

microalgas se mantenham em suspensas dentro das bolsas, ocupando toda área de iluminação disponível.

Cada mangueira de aeração está ligada com um filtro (FILTRO DE AERAÇÃO), afim de proteger o sistema de que qualquer tipo de corpo com diâmetros menores (2) micras possam entrar no sistema. Onde 2 cm acima é necessário anexar um clip de bloqueio nas mangueiras, caso seja necessário interromper o fornecimento de ar até as bolsas.

A outra extremidade da mangueira, que está ligada na parte inferior de cada bolsa, é conectada a uma ponteira feita de pipetas de 3 micras, cortadas a partir de um gabarito preá confeccionado, afim de padronizar as mesmas, quanto ao padrão de fornecimento de aeração (FIGURA 6).

FIGURA 6 - Pipetas padronizadas

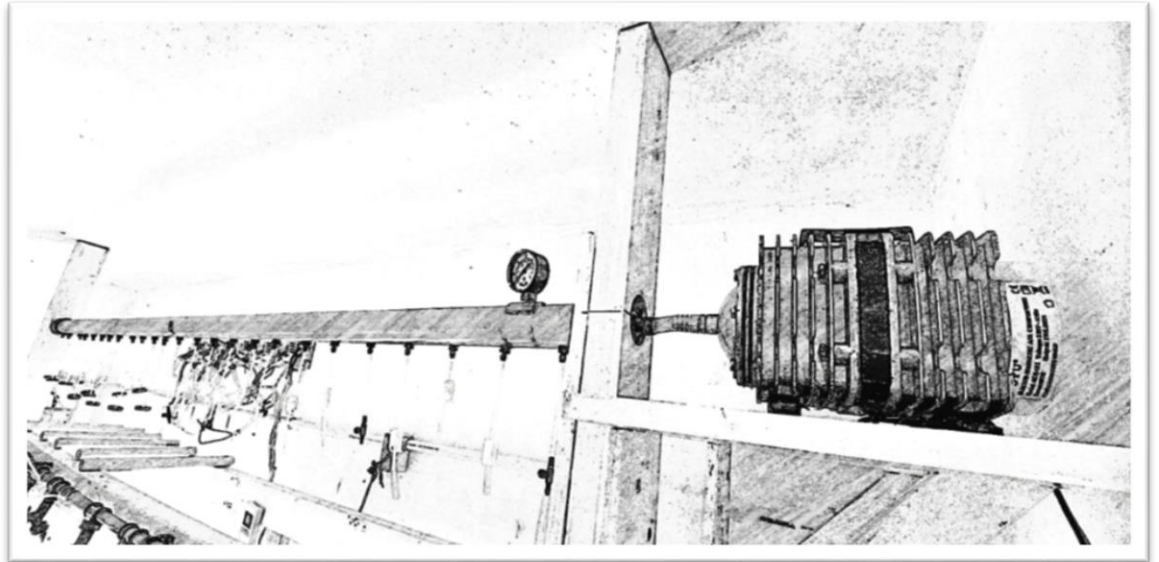


Fonte: O autor (2022).

Na figura 7 da direita para esquerda é por ordem de componentes do sistema de aeração, Soprador/ compressor (info. técnica na foto..) Mangueira de 20mm com 7cm, adaptador de mangueira, redução de 20 p/ 50mm, tubo de 50mm com 240cm de comprimento e com 25 perfurações com intervalo de 9cm

entre os furos, 25 borrachas e 25 adaptadores e 25 mangueiras de 0.5mm e 12cm de comprimento. E 25 presilhas uma para cada mangueira,

FIGURA 7 - Sistema de aeração das bolsas



Fonte: O autor (2022).

Após o tubo perfurado tem... Luva de 50mm, redução 50 para 32mm, curva de 32mm , tubo de 32mm com 40cm, joelho de 32mm, tubo de 32mm com 35cm, curva de 32mm , tubo de 32mm com 96cm, curva de 32, tubo de 32mm com 142cm , perfurado com 10 furos , 10 adaptadores de mangueira de 0,5mm, 10 presilhas , curva de 32mm , tubo de 32mm com 26cm , curva de 32, tubo de 32mm com 148cm, perfurado com 9 furos , 9 adaptadores de mangueira essa última aera das cepas..

ESTRUTURA DE SUSTENTAÇÃO

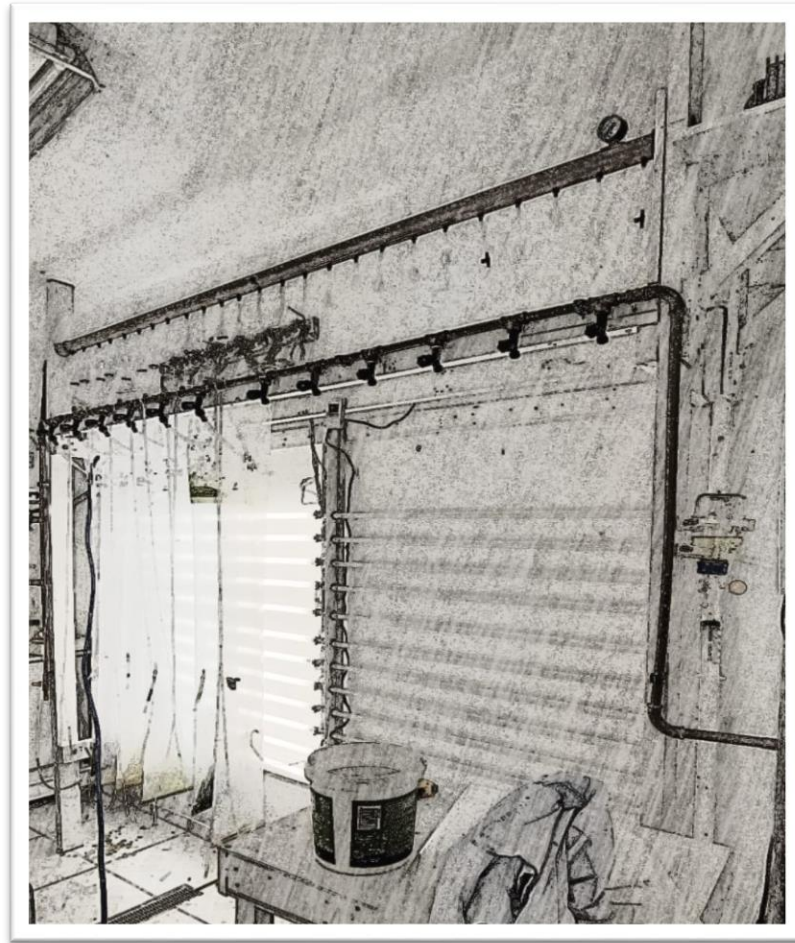
Conforme figura 8 descrita a seguir:

2 colunas de madeira com 288cmX9cmX4cm

2 traves de madeira com 243cmX9cmX4cm

4 travas finas presas a parede com 48cmX9cmX4cm

FIGURA 8 - Estrutura fotobiorreator



Fonte: O autor (2022).

- ripas de sustentação dos painéis de luz
- 2 ripas de madeira 240cmX9cmX2cm
- 1 ripa central vertical (prender lampada) 165cmX9cmX2cm
- 2 ripas finas nas extremidades (prender lampada) 165cmX5cmX2cm
- 1 prateleira de madeira para o soprador.

SISTEMA ELETRICO

Rede Copel 110v/220v, padrão de distribuição da rede UFPR-cem, a fiação chega ao laboratório do prédio e entra no quadro de distribuição que possui

disjuntores para iluminação dos seguintes: painel 1, painel 2, cepas, soprador, tomadas (filtro UV), luz da sala, bomba de água,

Painel de luz 1:

- 6 Reatores (info tec.foto)
- 12 Lâmpadas fluorescentes
- 24 Presilhas para cada extremidade de cada lâmpada,
- 24 Conectores para lâmpada
- Fios de 1 mm duplo flexível.

Painel de luz 2

- Direto na rede ligado por um fio 2.5mm duplo com ligação em série distribuído para 12 lâmpadas LED com 12 conectores a lâmpada só precisa de conector para 1 único lado no caso da lâmpada LED.

Lâmpada Fluorescente Tubular da marca: Philips, modelo: TLDRS 32w64 - T8 e comprimento: 120cm.

Lâmpada LED Tubular da marca EMPALUX, modelo: T8 20w - Branco Frio e comprimento de 120cm.

Iluminação	Lampada	Modelo	Potencia (w)	Tempretatura da cor (K)	Fluxo luminoso (lumens)	Vida mediana (h)
Fluorescente	PHILIPS	TLDRS	32w	4100	2350	12000
Led	EMPALUX	TL20316	20w	6500	1850	25000

SISTEMA ELETRICO

Rede Copel 110v/220v, padrão de distribuição da rede UFPR-cem, a fiação chega ao laboratório do prédio e entra no quadro de distribuição que possui disjuntores para iluminação dos seguintes: painel 1, painel 2, cepas, soprador, tomadas (filtro UV), luz da sala, bomba de água,

Painel de luz 1:

- 6 Reatores (info tec.foto)
- 12 Lâmpadas fluorescentes
- 24 Presilhas para cada extremidade de cada lâmpada,
- 24 Conectores para lâmpada
- Fios de 1 mm duplo flexível.

Painel de luz 2

- Direto na rede ligado por um fio 2.5mm duplo com ligação em série distribuído para 12 lâmpadas LED com 12 conectores a lâmpada só precisa de conector para 1 único lado no caso da lâmpada LED.

Lâmpada Fluorescente Tubular da marca: Philips, modelo: TLDRS 32w64 - T8 e comprimento: 120cm.

Lâmpada LED Tubular da marca EMPALUX, modelo: T8 20w - Branco Frio e comprimento de 120cm.

APÊNDICE 2 – CONWAY (WALNE 79)

MEIO DE CULTURA

Neste apêndice, está descrito meio de cultura utilizado em ambos experimentos abordados.

A Tabela a seguir apresenta o meio de cultura utilizado no experimento i (PILOTO) e no experimento ii (com diferentes fontes de iluminação) quanto a solução de silicato e vitaminas.

ELEMENTO	QUANTIDADE
SOLUÇÃO PRINCIPAL	
Na ₂ edta	45,0 g
NaNO ₃	100,0 g
H ₃ Bo ₃	33,6 g
Na ₂ HP0 ₄	20,0 g
MnCL ₂ 4H ₂ O	0,36 g
FeCL ₃ 6H ₂ O	1,3 g
Água destilada	1.000,0 ml
Solução traços	1,0 ml
Observação: Utilização - 1,0 mL/L	
SOLUÇÃO DE TRAÇOS	
ZnCl ₂	2,1 g
CaCl ₂	2,0 g
(nh ₄) ₆ mo ₇ o ₂₄ .4h ₂ o	0,9 g
CuSo ₄ .5h ₂ o	2,0 g
Água destilada	100 ml
Observação: Adicionar 4mL de HCl para dissolução de sais	
Observação: Utilização 0,1mL/L	
SOLUÇÃO DE SILICATOS	
na ₂ Sio ₄ . 5h ₂ o	4,0 mg
Água destilada	
(uso restrito às diatomáceas)	100 ml
Observação: Utilização 1,0 mL/L	

Fonte: Adaptado de WALNE (1979).

APÊNDICE 3 – CONTAGEM DIRETA DE CELULAS

Neste Apêndice, está descrito o método de contagem utilizado, para o cálculo de densidade celular.

Para a contagem das microalgas, foi utilizado um microscópio óptico essencial para proceder a contagem, sendo dotado de capacidade de aumento, de até 400X. Nas contagens em microscópio, geralmente a densidade de indivíduos é expressa como número de células por mililitro de cultivo (cél/ml). Para auxílio da realização de contagem das microalgas por microscopia, foi utilizado uma câmara de Neubauer, um hemocitômetro, onde segundo (LOURENÇO, 2006) inicialmente foi criado para a quantificação precisa de células de sangue, porém, vem sendo utilizado a décadas para contar microalgas pequenas.

CÂMARA DE NEUBAUER

A câmara de Neubauer tem profundidade de 0,1 mm (distância entre a lamínula e a área de contagem), possui uma área total de 9,0 mm² e volume de 9,0 mm³, formada por 9 quadrados grandes, cada um deles com 1,0 mm².

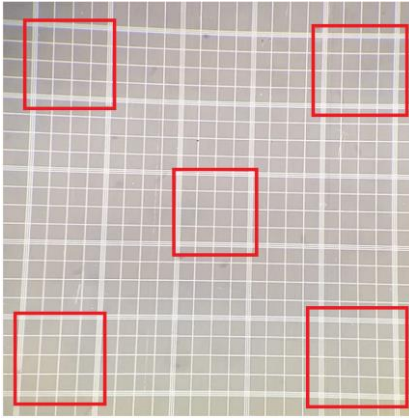
O quadrado que formam os vértices da câmara, são divididos em 16 quadrados menores cada, já o quadrado central é dividido em 25 quadrados menores, cada um com cerca de 0,04 mm². Este que por sua vez é subdividido por 16 quadrados ainda menores, com cerca de 0,0025 mm²

DETERMINAÇÃO DE CÉLULA EM CADA ML DE CULTIVO

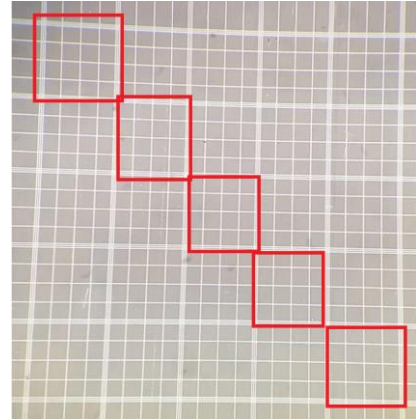
A determinação da densidade celular por hemocitometro é realizada por meio de fatores de multiplicação, próprios para o tamanho da área contada. No caso da câmara de Neubauer, cada quadrado grande tem 1,0 mm² e recebe uma “coluna” cuja altura é de 1,0 mm; assim; o volume total sobre cada quadrado é determinado por: 1,0 mm² x 0,1 mm = 0,1 mm³ ou 10⁻⁴ cm³, uma vez que 1cm³ é equivalente a 1,0ml, a densidade de célula em cada ml de cultivo será determinada simplesmente pela multiplicação da contagem média por 10⁴.

PADRAO DE CONTAGEM

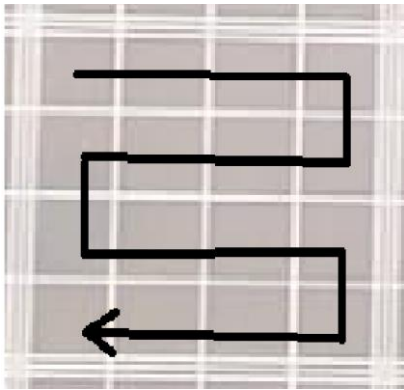
a) Contagem das amostras



b) Contagem das duplicatas



c) Ordem de contagem adotada



Fonte: O autor (2022).

APÊNDICE 4 – ROTINAS APLICADAS PARA OS TESTES ESTATÍSTICOS

Neste apêndice, contém as rotinas de análise e os resultados dos testes comparativos realizados entre espécies (CM e ISO) e tratamentos (FS e LED), para as variáveis resposta pH, concentração de células por ml e taxa de crescimento exponencial. A análise foi realizada no software R.

PREPARAÇÃO:

Carregando pacotes necessários para análise:

```
library(readxl) # importar o conjunto de dados
library(dplyr) # manipular o conjunto de dados
library(car) # teste de homogeneidade variância
```

Carregando o conjunto de dados com valores de pH e Cel/ml:

```
kelvin <- read_excel("planilha stat Kelvin_SS.xlsx", sheet = "r_ph_cel")
```

Visualização do formato da planilha e transformação de variáveis para o formato adequado para conjunto de dados com valores de pH e Cel/ml:

```
head(kelvin)

## # A tibble: 6 x 4
##   sp      ph lampada cel_ml
##   <chr> <dbl> <chr>      <dbl>
## 1 ISO    7.8   FS         225000
## 2 ISO    7.77  FS         800000
## 3 ISO    7.84  FS        1700000
## 4 ISO    7.8   FS        1850000
## 5 ISO    7.91  FS        2050000
## 6 ISO    7.86  FS        3150000

kelvin$sp<-as.factor(kelvin$sp)
kelvin$lampada<-as.factor(kelvin$lampada)
kelvin$ph<-as.numeric(kelvin$ph)
kelvin$cel_ml<-as.numeric(kelvin$cel_ml)
```

Carregando e preparando o conjunto de dados com valores da exponencial:

```
kelvin_exp <- read_excel("planilha stat Kelvin_SS.xlsx", sheet = "r_exp")
```

Visualização do formato da planilha e transformação de variáveis para o formato adequado para conjunto de dados com valores da exponencial:

```
head(kelvin_exp)

## # A tibble: 6 x 3
##   sp      lampada uexp
##   <chr> <chr>      <dbl>
## 1 ISO    LED         0.436
## 2 ISO    LED         0.463
## 3 ISO    LED         0.538
```

```
## 4 ISO FS 0.595
## 5 ISO FS 0.574
## 6 ISO FS 0.562

kelvin_exp$lampada<-as.factor(kelvin_exp$lampada)
kelvin_exp$sp<-as.factor(kelvin_exp$sp)
kelvin_exp$uexp<-as.numeric(kelvin_exp$uexp)
```

Criando conjuntos de dados para cada espécie, a partir de cada um dos dois conjuntos de dados importados:

```
cm<-filter(kelvin,sp=="CM")
iso<-filter(kelvin,sp=="ISO")

cm_exp<-filter(kelvin_exp,sp=="CM")
iso_exp<-filter(kelvin_exp,sp=="ISO")
```

ANÁLISE DADOS PH E CEL/ML:

Resumo dos dados:

```
str(kelvin)

## tibble [372 x 4] (S3: tbl_df/tbl/data.frame)
## $ sp      : Factor w/ 2 levels "CM","ISO": 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...
## $ ph      : num [1:372] 7.8 7.77 7.84 7.8 7.91 7.86 8.22 8.4 8.34 8.55
## ...
## $ lampada: Factor w/ 2 levels "FS","LED": 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 ...
## $ cel_ml  : num [1:372] 225000 800000 1700000 1850000 2050000 ...
```

Níveis das variáveis discretas:

```
levels(kelvin$sp)

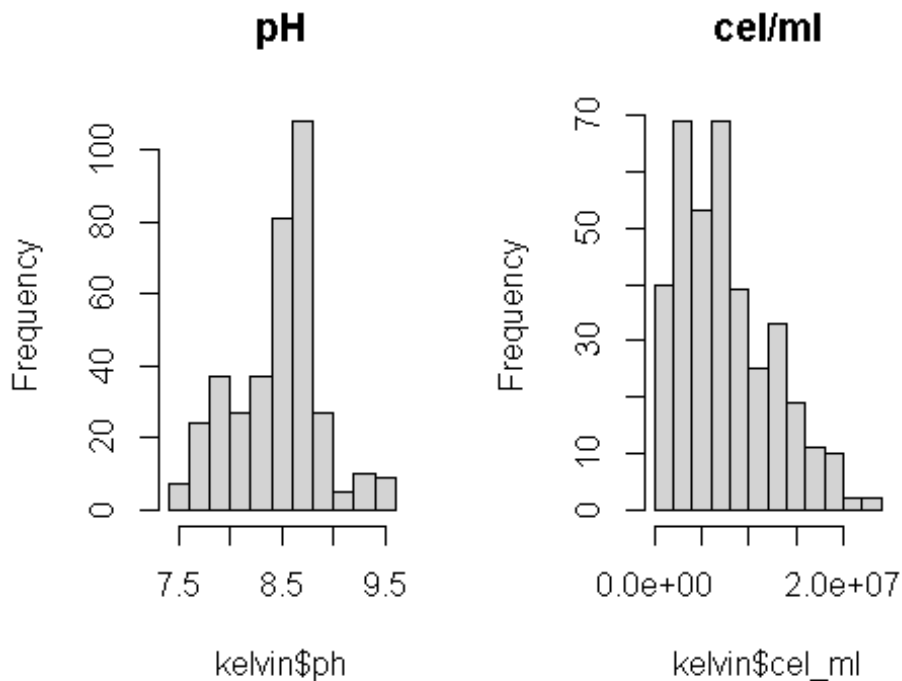
## [1] "CM" "ISO"

levels(kelvin$lampada)

## [1] "FS" "LED"
```

Distribuição dos valores das variáveis numéricas:

```
par(mfrow=c(1,2))
hist(kelvin$ph,main="pH")
hist(kelvin$cel_ml,main="cel/ml")
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

CM - LED X FS (PH)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_ph_luz_cm <- aov(ph ~ lampada, data = cm)
summary(res.aov_ph_luz_cm)
```

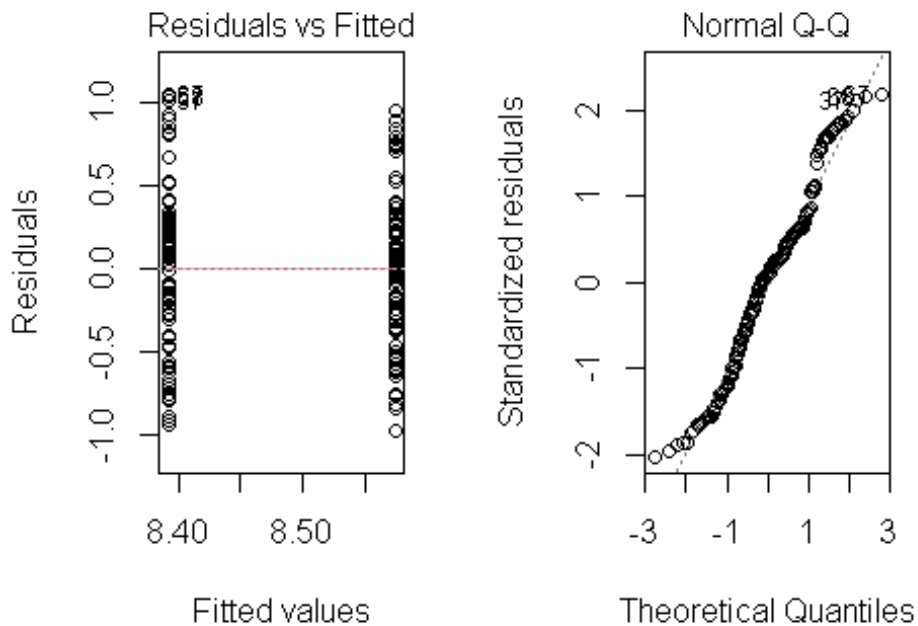
```
##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## lampada      1   1.54   1.5355   6.579 0.0111 *
## Residuals  184  42.94   0.2334
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
TukeyHSD(res.aov_ph_luz_cm)
```

```
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = ph ~ lampada, data = cm)
##
## $lampada
##           diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS 0.1817204 0.04194679 0.3214941 0.0111141
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_ph_luz_cm,1)
plot(res.aov_ph_luz_cm,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```
leveneTest(ph ~ lampada, data = cm)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  1  0.4086 0.5235
##      184

bartlett.test(ph ~ lampada, data = cm)

##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data:  ph by lampada
## Bartlett's K-squared = 0.63342, df = 1, p-value = 0.4261
```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```
shapiro.test(residuals(res.aov_ph_luz_cm))

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  residuals(res.aov_ph_luz_cm)
## W = 0.97562, p-value = 0.002439
```

ISO - LED X FS (PH)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_ph_luz_iso <- aov(ph ~ lampada, data = iso)
summary(res.aov_ph_luz_iso)
```

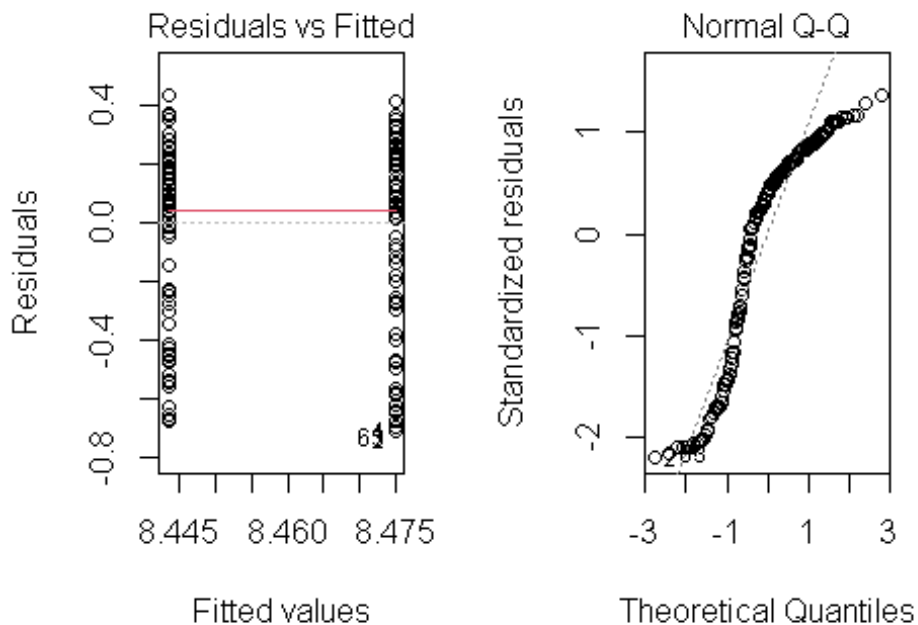
```
##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## lampada      1  0.046  0.04553   0.435  0.51
## Residuals  184 19.251  0.10463
```

```
TukeyHSD(res.aov_ph_luz_iso)
```

```
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = ph ~ lampada, data = iso)
##
## $lampada
##          diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS -0.03129032 -0.1248751  0.06229447 0.5102982
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_ph_luz_iso,1)
plot(res.aov_ph_luz_iso,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```
leveneTest(ph ~ lampada, data = iso)
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##          Df F value Pr(>F)
```

```
## group 1 0.424 0.5157
## 184

bartlett.test(ph ~ lampada, data = iso)

##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data: ph by lampada
## Bartlett's K-squared = 0.14729, df = 1, p-value = 0.7011
```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```
shapiro.test(residuals(res.aov_ph_luz_iso))

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data: residuals(res.aov_ph_luz_iso)
## W = 0.85835, p-value = 3.716e-12
```

CM - LED X FS (CEL/ML)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_cel_luz_cm <- aov(cel_ml ~ lampada, data = cm)
summary(res.aov_cel_luz_cm)

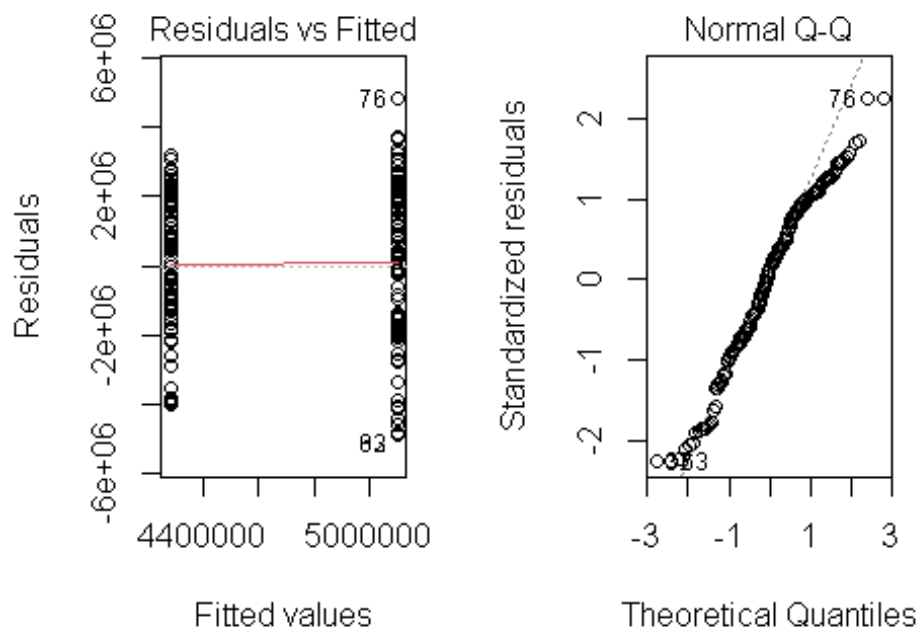
##           Df      Sum Sq   Mean Sq F value Pr(>F)
## lampada     1 3.134e+13 3.134e+13  6.673 0.0106 *
## Residuals 184 8.642e+14 4.697e+12
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

TukeyHSD(res.aov_cel_luz_cm)

## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = cel_ml ~ lampada, data = cm)
##
## $lampada
##           diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS -820967.7 -1447998 -193937.2 0.0105663
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_cel_luz_cm,1)
plot(res.aov_cel_luz_cm,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```
leveneTest(CEL_ml ~ lampada, data = cm)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value  Pr(>F)
## group  1  9.8548 0.001973 **
##      184
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

bartlett.test(CEL_ml ~ lampada, data = cm)

##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data:  CEL_ml by lampada
## Bartlett's K-squared = 6.8218, df = 1, p-value = 0.009005
```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```
shapiro.test(residuals(res.aov_CEL_luz_cm))

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  residuals(res.aov_CEL_luz_cm)
## W = 0.97485, p-value = 0.001949
```

ISO - LED X FS (CEL/ML)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_cel_luz_iso <- aov(cel_ml ~ lampada, data = iso)
summary(res.aov_cel_luz_iso)

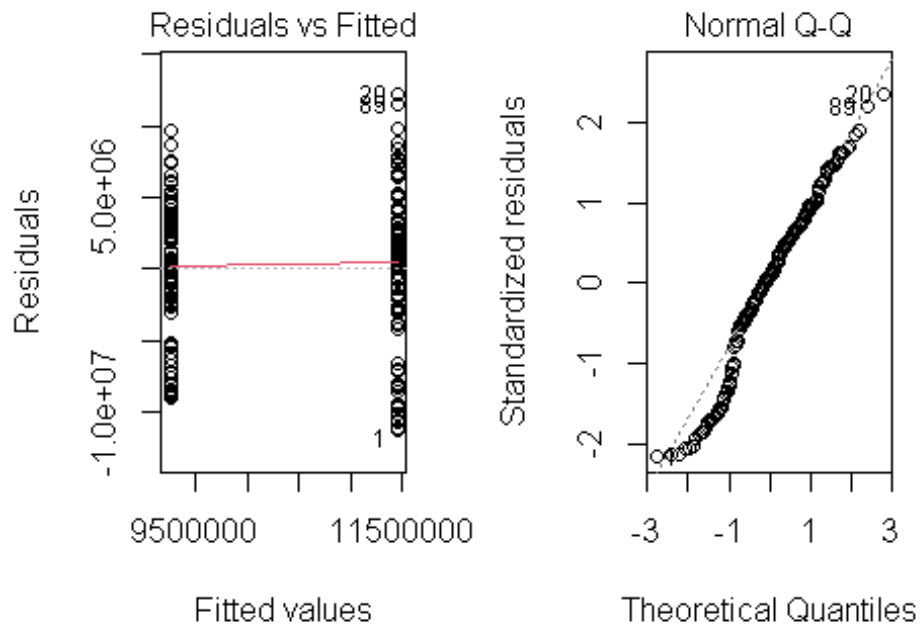
##           Df      Sum Sq   Mean Sq F value    Pr(>F)
## lampada      1 2.245e+14 2.245e+14   8.185 0.00471 **
## Residuals  184 5.046e+15 2.742e+13
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

TukeyHSD(res.aov_cel_luz_iso)

##      Tukey multiple comparisons of means
##      95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = cel_ml ~ lampada, data = iso)
##
## $lampada
##           diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS -2197043 -3712165 -681920.6 0.0047131
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_cel_luz_iso,1)
plot(res.aov_cel_luz_iso,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```

leveneTest(ce1_ml ~ lampada, data = iso)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  1  4.2168 0.04144 *
##      184
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

bartlett.test(ce1_ml ~ lampada, data = iso)

##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data:  ce1_ml by lampada
## Bartlett's K-squared = 5.6839, df = 1, p-value = 0.01712

```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```

shapiro.test(residuals(res.aov_ce1_luz_iso))

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  residuals(res.aov_ce1_luz_iso)
## W = 0.97332, p-value = 0.001257

```

ANÁLISE DADOS TAXA DE CRESCIMENTO EXPONENCIAL:

Resumo dos dados:

```

str(kelvin_exp)

## tibble [12 x 3] (S3: tbl_df/tbl/data.frame)
## $ sp      : Factor w/ 2 levels "CM","ISO": 2 2 2 2 2 2 1 1 1 1 ...
## $ lampada: Factor w/ 2 levels "FS","LED": 2 2 2 1 1 1 2 2 2 1 ...
## $ uexp    : num [1:12] 0.436 0.463 0.538 0.595 0.574 ...

```

Níveis das variáveis discretas:

```

levels(kelvin_exp$sp)

## [1] "CM" "ISO"

levels(kelvin_exp$lampada)

## [1] "FS" "LED"

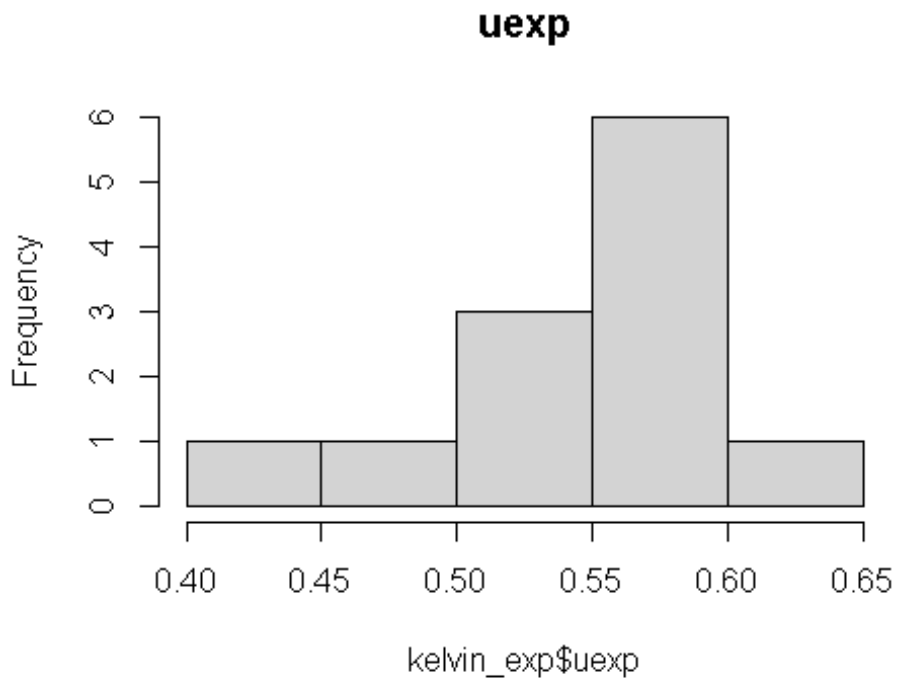
```

Distribuição dos valores das variáveis numéricas:

```

hist(kelvin_exp$uexp, main="uexp")

```



CM - LED X FS (UEXP)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_cm_exp_luz<- aov(uexp ~ lampada, data = cm_exp)
summary(res.aov_cm_exp_luz)
```

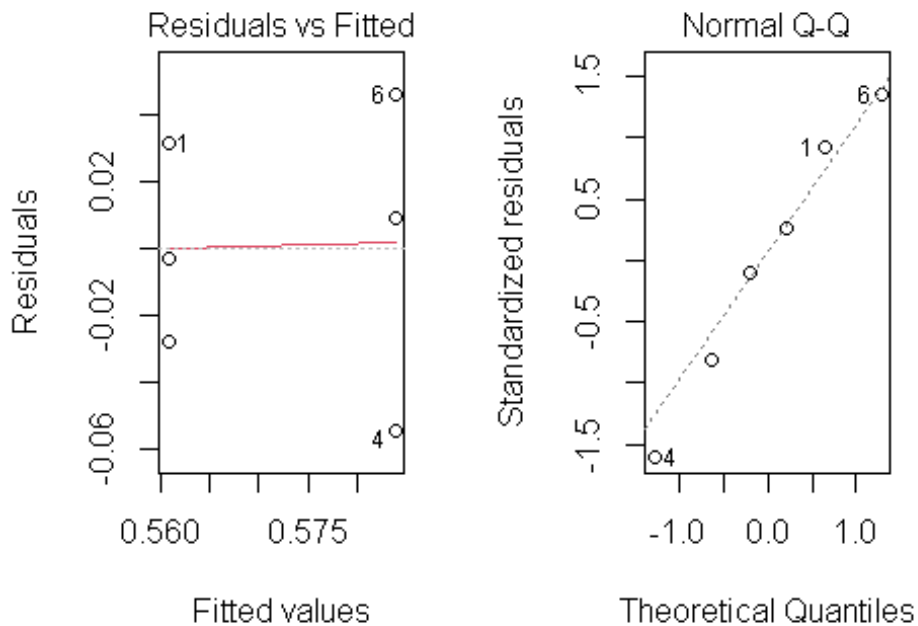
```
##           Df  Sum Sq  Mean Sq F value Pr(>F)
## lampada    1 0.000807 0.0008068   0.467  0.532
## Residuals  4 0.006905 0.0017263
```

```
TukeyHSD(res.aov_cm_exp_luz)
```

```
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = uexp ~ lampada, data = cm_exp)
##
## $lampada
##           diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS -0.02319221 -0.1173826 0.07099818 0.531751
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_cm_exp_luz,1)
plot(res.aov_cm_exp_luz,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```
leveneTest(uexp ~ lampada, data = cm_exp)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 1  0.4179 0.5532
##      4

bartlett.test(uexp ~ lampada, data = cm_exp)

##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data:  uexp by lampada
## Bartlett's K-squared = 0.43004, df = 1, p-value = 0.512
```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```
shapiro.test(residuals(res.aov_cm_exp_luz))

##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  residuals(res.aov_cm_exp_luz)
## W = 0.97641, p-value = 0.9324
```

ISO - LED X FS (UEXP)

Ajuste e resultados do modelo:

```
res.aov_iso_exp_luz<- aov(uexp ~ lampada, data = iso_exp)
summary(res.aov_iso_exp_luz)

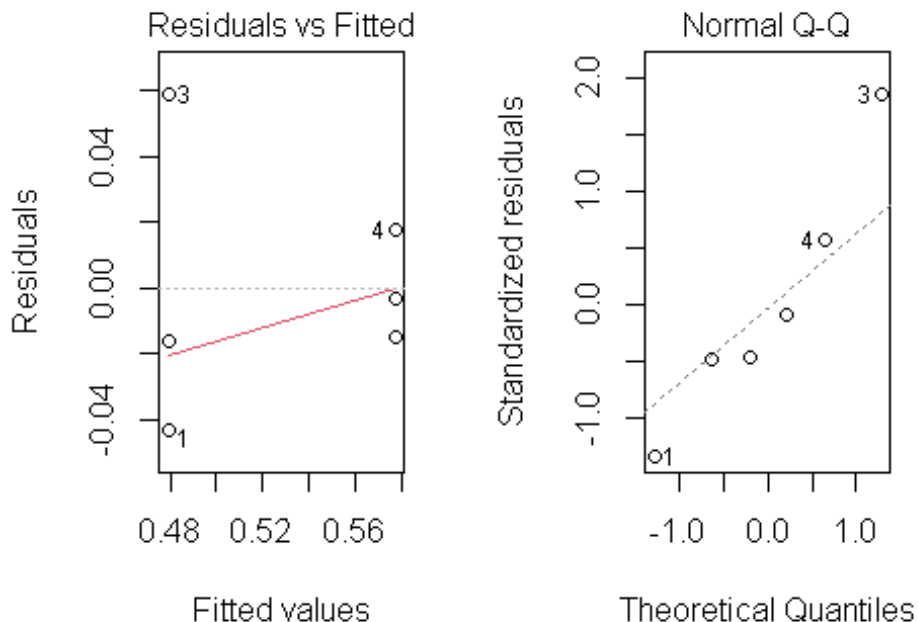
##              Df   Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## lampada       1 0.014408 0.014408   9.486 0.0369 *
## Residuals     4 0.006076 0.001519
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

TukeyHSD(res.aov_iso_exp_luz)

##      Tukey multiple comparisons of means
##      95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = uexp ~ lampada, data = iso_exp)
##
## $lampada
##              diff          lwr          upr      p adj
## LED-FS -0.09800715 -0.1863592 -0.00965515 0.036937
```

Visualização dos pressupostos (homogeneidade de variância e normalidade dos resíduos):

```
par(mfrow=c(1,2))
plot(res.aov_iso_exp_luz,1)
plot(res.aov_iso_exp_luz,2)
```



```
par(mfrow=c(1,1))
```

Avaliação do pressuposto de homogeneidade de variância:

```
leveneTest(uexp ~ lampada, data = iso_exp)
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group 1  1.0271 0.3682
##      4
```

```
bartlett.test(uexp ~ lampada, data = iso_exp)
```

```
##
## Bartlett test of homogeneity of variances
##
## data:  uexp by lampada
## Bartlett's K-squared = 1.7764, df = 1, p-value = 0.1826
```

Avaliação do pressuposto de normalidade dos resíduos:

```
shapiro.test(residuals(res.aov_iso_exp_luz))
```

```
##
## Shapiro-Wilk normality test
##
## data:  residuals(res.aov_iso_exp_luz)
## W = 0.94459, p-value = 0.6963
```