

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – MESTRADO EM TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Pablo Diego Gressler

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat)
E.Hegewald & A.Schmidt (CHLOROPHYCEAE) CULTIVADA EM
FOTOBIORREATOR TUBULAR COM EFLUENTE DA ETE-UNISC, VISANDO
BIORREMEDIAÇÃO E OBTENÇÃO DE ENERGIA**

Santa Cruz do Sul, março de 2011

Pablo Diego Gressler

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat)
E.Hegewald & A.Schmidt (CHLOROPHYCEAE) CULTIVADA EM
FOTOBIORREATOR TUBULAR COM EFLUENTE DA ETE-UNISC, VISANDO
BIORREMEDIAÇÃO E OBTENÇÃO DE ENERGIA**

Está Dissertação foi submetida ao Programa de Pós-Graduação
– Mestrado em Tecnologia Ambiental, Área de Concentração em
Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do
Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Tecnologia Ambiental.

Dr. Ivanildo Luiz de Mattos

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE - USACH

Dr.(a) Jair Putzke

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL - UNISC

Dra. Rosana de Cassia de Souza Schneider

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL - UNISC

ORIENTADORA

Dr. Eduardo Alexis Lobo Alcayaga

UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL – UNISC

CO-ORIENTADOR

Santa Cruz do Sul, março de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por mais este passo em minha caminhada neste mundo.

Agradeço a meus pais, pela presença, apoio e respeito mútuo ao longo da minha vida. Muito obrigado.

Aos orientadores, a Dra. Rosana Schneider e o Dr. Eduardo A. Lobo Alcayaga, que sempre se mostraram dispostos a dar “vida” a essa busca. Pela amizade, atenção e conselhos de grande valor, meu muito obrigado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela bolsa cedida para o Mestrado em Tecnologia Ambiental da UNISC.

Ao Dr. Ivanildo de Mattos, da Universidade de Santiago – USACH – Chile, que juntamente com Dr. Jair Putzke honraram o convite para compor a banca examinadora deste trabalho.

À minha colega de Pós-Graduação (*lato sensu*) em Biocombustíveis, onde tudo isso teve início, Marcia Stracke Alves, pela convivência de extrema compreensão e ajuda nos momentos difíceis do trabalho, pela incansável determinação em concluir o proposto.

Às Dras. Sandra Alves e Vera Werner, da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, pela contribuição quanto à noções de taxonomia de microalgas e pela notável cortesia durante o estágio voluntário realizado pelo autor.

À Msc. em Aquicultura Lisandra Isabel Meinerz, pelos conhecimentos de grande valor compartilhados, pela acolhida na cidade de Rio Grande, RS, Brasil, durante visita ao Laboratório de Fitoplâncton da Fundação Universidade do Rio Grande, FURG. Ainda deste mesmo laboratório registro meus sinceros agradecimentos ao Dr. Paulo Cesar V. Abreu, à Dra. Lucélia Borges, à Msc. Alessandra Arriada e demais bolsistas no ano de 2009 e 2010, pela atenção e esclarecimentos sobre o cultivo de microalgas.

Ao Engenheiro Ambiental, colega e amigo, Filipe Vargas Zerwes, pelas incontáveis conversas sobre idéias acerca desta temática, antes mesmo do Mestrado, pela grande ajuda na construção do Fotobiorreator usado neste trabalho, com horas de trabalho pela madrugada adentro no Laboratório de Tecnologia e Tratamento de Efluentes da UNISC (LATTAE-UNISC).

Ao Professor, Engenheiro Mecânico, Msc. em Tecnologia Ambiental e amigo, Jonas Kaercher por compartilhar seus conhecimentos nos momentos da concepção do Fotobiorreator, sempre encontrando um tempo na sua agenda para conferir pessoalmente a concepção do fotobiorreator quando requisitado.

Ao Químico Industrial, colega e amigo, Thiago Bjerck, incansável no trabalho, grande compreensão e senso crítico. Obrigado pelos conhecimentos compartilhados, sobre química, elétrica, cerveja e churrasco e pela mão de obra sem a qual o trabalho seria prejudicado sem sombra de dúvida.

Ao amigo Eduardo Bellmann do Nascimento, pelas conversas técnicas de imenso valor, pela atenção sempre que solicitei mesmo estando “até o pescoço” de afazeres. Pelas conversas sobre Nativismo, Jayme Caetano Braun, Volkswagen

refrigerado a ar, LED's e comprimentos de ondas fotossintéticos, durante os intervalos, para descontraír.

Às bolsistas de Iniciação Científica, Maiara Souza e Ana Zappe, pela imensa ajuda na manutenção dos cultivos e processamento da biomassa, pela parceria do dia-a-dia no laboratório, sempre atenciosas e dispostas, mesmo em dias ruins, a dar o prosseguimento necessário às atividades.

Ao bolsista Juliano Assmann por colaborar com as atividades propostas sempre que requisitado, pelas excelentes fotos utilizadas neste trabalho, pelas conversas e pela parceria durante a realização das atividades.

À Mireila Lersch, pela atenciosa contribuição, pelo chimarrão e pela parceria na revisão das referências utilizadas neste trabalho.

ENFIM, MUITO OBRIGADO A TODOS!

“Deixe-me te dizer uma coisa que você já sabe. O mundo não é um mar de rosas. É um lugar ruim e asqueroso, e não importa o quão durão você é... ele te deixará de joelhos e te manterá assim se você permitir. Nem você, nem eu, nem ninguém baterá tão forte quanto a vida. Mas isso não se trata de quão forte você pode bater, trata-se de quão forte pode ser atingido e continuar seguindo em frente. É assim que a vitória é conquistada. Agora, se você sabe o seu valor, vá e o conquiste. Mas deve estar preparado para ser atingido e não ficar apontando para os outros, dizendo que não está onde queria por causa dele ou dela, ou de qualquer um! Covardes fazem isso, e você não é! Você é muito melhor que isso!”

(Balboa Rules!!)

RESUMO

A imensa biodiversidade das microalgas aliada ao melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm permitindo que estas sejam utilizadas em diversas aplicações. Em especial o tratamento de águas residuais de processos industriais, mitigação do efeito estufa pela assimilação do dióxido de carbono (CO₂) e a produção de biocombustíveis como o biodiesel e o etanol. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo a concepção, construção e operação de um fotobiorreator tubular de coluna de bolhas com fluxo semi contínuo de gases e iluminação artificial, na Universidade de Santa Cruz do Sul, utilizando como organismo teste a microalga *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt (CHLOROPHYTA), cultivada no Efluente da Estação de Tratamento de Esgoto da UNISC (ETE-UNISC), avaliando a capacidade de crescimento, remoção de nutrientes e o potencial oleaginoso da biomassa com vistas no futuro à obtenção de Biodiesel. Para o cultivo de *D. subspicatus* sem aporte de dióxido de carbono, a densidade celular máxima obtida foi de $8,49 \times 10^6$ células mL⁻¹, atingida no terceiro dia de cultivo. Já para o cultivo com suplemento de CO₂ a densidade celular máxima foi de $25,98 \times 10^6$ células mL⁻¹ atingida no sétimo dia de cultivo. Para o peso seco da biomassa, o cultivo sem aporte de CO₂ no efluente obteve um máximo de 185,00 mg L⁻¹, e o cultivo com aporte de CO₂ obteve um máximo de 2435,33 mg L⁻¹. Os resultados indicaram que houve assimilação de nutrientes (crescimento da biomassa) principalmente no cultivo com dióxido de carbono suplementar. A qualidade do efluente e a presença de dióxido de carbono suplementar não proporcionaram perfis de ácidos graxos distintos, destacando os ácidos graxos C16:0 (ácido palmítico) e C18:1 (ácido oleico). O teor de óleo extraído foi em média de 18 e 12% para o cultivo com e sem aporte de CO₂ respectivamente.

ABSTRACT

Evaluation of the efficiency of *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt (CHLOROPHYCEAE) cultivated in tubular photobioreactor from the effluent of the sewage treatment plant of UNISC, aiming bioremediation and energy generation.

The high biodiversity of microalgae combined with genetic improvement and establishment of culture technology on a large scale, are allowing them to be used in various applications, particularly the treatment of wastewater from industrial processes, mitigation of greenhouse gases by the assimilation of carbon dioxide (CO₂) and the production of biofuels such as biodiesel and ethanol. In this context, this work aimed at the design, construction and operation of a tubular bubble column photo bioreactor with continuous flow of gases and semi artificial lighting, in the University of Santa Cruz do Sul (UNISC), using as test organism the microalgae *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E. Hegewald & A. Schmidt (CHLOROPHYTA), cultivated in the effluent from the UNISC Sewage Treatment Plant (STP-UNISC), assessing the growing capacity, nutrient removal and the biomass oleaginous potential in order to be used in the future for biodiesel production. For cultivation of *D. subspicatus* without carbon dioxide contribution, the maximum cell density obtained was $8,49 \times 10^6$ cells mL⁻¹, reached at the third day of cultivation. As for the culture with supplemental CO₂, the maximum cell density obtained was 25.98×10^6 cells mL⁻¹, reached at the seventh day of cultivation. For the dry weight of biomass, the culture without CO₂ contribution in the effluent reached a maximum of 185.0 mg L⁻¹, and the culture with CO₂ contribution reached a maximum of 2435.3 mg L⁻¹. The results indicate that there was assimilation of nutrients (biomass growth) mainly in the culture with additional carbon dioxide. The quality of the effluent and the presence of carbon dioxide did not provide additional distinct fatty acid profiles, highlighting the fatty acids C16: 0 (palmitic acid) and C18: 1 (oleic acid). The extracted oil content averaged 18 and 12% for the culture with and without CO₂, respectively.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Curva de crescimento de um cultivo estacionário de microalgas (DERNER, 2006).....	28
Figura 2: Tanque do tipo “ <i>raceway pond</i> ” típico para sistema aberto (http://mybelojardim.com/category/aquicultura/algas-aquicultura/).....	31
Figura 3: Fotobiorreator tubular verticalmente inclinado para o cultivo fechado de microalgas (http://www.organicmechanic.com/product/algae-biofuel).....	32
Figura 4: Esquema sobre o potencial de aplicação das microalgas (Adaptado de ROSENBERG et al., 2008).....	39
Figura 5: Fluxograma dos processos de conversão da biomassa de microalgas (Adaptado de TSUKAHARA, 2005).....	42
Figura 6: a) Equação geral para uma reação de transesterificação; b) equação geral da transesterificação de um triacilglicerídeo. Fonte: GERIS et al. 2007.....	43
Figura 7: Células inteiras de <i>Desmodesmus subspicatus</i> (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt. Fonte: Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic (2011).	49
Figura 8: Localização do Município de Santa Cruz do Sul, no Vale do Rio Pardo e da UNISC (Düppont, 2010).	51
Figura 9: Vista geral da área construída da UNISC, a seta indica o local da ETE-UNISC (Google Earth, 2011).....	52
Figura 10: Vista geral da ETE-UNISC, no canto inferior direito o detalhe para a caixa de inspeção, de onde foram retiradas as amostras de efluente.....	52
Figura 11: Fluxograma resumido das etapas do trabalho.....	54
Figura 12: Instrumentos utilizados para as contagens: Contador manual (A); Câmara de Neubauer (B); Microscópio óptico (C).....	58
Figura 13: Estrutura para manutenção das culturas de <i>D. subspicatus</i>	64

- Figura 14: Fotobiorreator experimental de bancada (I). A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpada fluorescente de 20 W; (2) Tubos de acrílico de 50mm com a cultura e (3) bomba de ar diafragmática..... 65
- Figura 15: Gráfico para as curvas de densidade nos dois tubos do primeiro fotobiorreator confeccionado no trabalho. 66
- Figura 16: Fotobiorreator experimental de bancada (II). A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpada fluorescentes de 32W; (2) Tubo de acrílico com 1,0m de altura e (3) torneira..... 67
- Figura 17: Caixa elétrica dos reatores (1) e detalhe do *cooler* de resfriamento (2). 68
- Figura 18: Terceiro fotobiorreator tubular de coluna de bolhas desenvolvido ao longo do trabalho. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpadas fluorescentes de 32W; (2) tubo de acrílico de 1,0m de altura; (3) caixa elétrica; (4) estrutura de madeira para suporte; (5) bomba de ar diafragmática..... 69
- Figura 19: Curva de crescimento de *D.subspicatus* no terceiro Fotobiorreator desenvolvido. 70
- Figura 20: Separação entre biomassa (fundo) e o sobrenadante do cultivo, em funil de separação..... 71
- Figura 21: Filtragem a vácuo da biomassa e biomassa liofilizada. 71
- Figura 22: Cromatograma do óleo extraído da biomassa de *D. subspicatus*. 73
- Figura 23: Vista geral do reservatório (caixa de acrílico) construído. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) bomba submersa; (2) flange para acoplamento de eletrodo (pH); (3) flange para entrada do volume da cultura pós tubos; (4) “engate rápido” de mangueira pneumática para entrada de gases do último tubo; (5) flange para saída do volume da cultura para os tubos; (6) flange para saída de gases do reservatório. 75
- Figura 24: Vista geral do sistema de recirculação adotado no trabalho. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) bomba submersa; (2) flange para saída do volume da cultura para os tubos; (3) registro para controle de vazão de fluxo da bomba submersa..... 76

- Figura 25: Vista geral dos compressores diafragmáticos para fluxo semi-contínuo de gases. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) compressor diafragmático; (2) registro da saída de tubo; (3) mangueira pneumática de 6,0mm para entrada de gases e formação da coluna de bolhas; (4) válvula anti refluxo de gases. 77
- Figura 26: Vista em detalhe do engate pneumático (1) para fixação das mangueiras pneumáticas (2)..... 77
- Figura 27: Detalhe do tipo de válvula anti-refluxo (1) utilizada nas mangueiras pneumáticas (2)..... 78
- Figura 28: Erlenmayer (*Trap*) com solução alcalina (1) para fixação do CO₂ não absorvido pelo sistema..... 78
- Figura 29: Cilindro de CO₂ (1), válvula solenóide (2), manômetro do cilindro (3) e fluxômetro (4) utilizados no sistema. 79
- Figura 30: Fotobiorreator final..... 80
- Figura 31: Curvas de crescimento de *D. subspicatus* para os meios testados no fotobiorreator final. As curvas representam a média de duas repetições de cada experimento..... 82
- Figura 32: Curvas de pH durante os cultivos com e sem aporte de dióxido de carbono. As curvas representam a média de duas repetições de cada experimento. 83
- Figura 33: Cromatogramas íon total dos ésteres metílicos referentes aos ácidos graxos presentes no óleo de *D. subspicatus* produzida em efluente com e sem aporte de CO₂. 93
- Figura 34: Histograma para visualização das tendências das proporções relativas das áreas de picos amostrais..... 94

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Comparativo entre os sistemas aberto (lagoas) e fechado (Fotobiorreatores) para o cultivo de microalgas (SOARES 2010), adaptado de PULZ & GROSS (2004).....	33
TABELA 2 - Alguns produtos obtidos a partir de microalgas Derner (2006).....	41
TABELA 3 - Relação dos parâmetros avaliados para a caracterização analítica do efluente e nome dos respectivos procedimentos adotados para suas determinações.	60
TABELA 4 - Determinação de Biomassa e lipídios de <i>D. subspicatus</i>	72
TABELA 5 - Perfil de ácidos graxos (%) das microalgas <i>Spirulina</i> sp. LEB-18, <i>Scenedesmus obliquus</i> LEB-22, <i>Synechococcus nidulans</i> LEB-25 e <i>Chlorella vulgaris</i> LEB-106, cultivadas em 12% de CO ₂ ; nd = não detectado (Radmann & Costa, 2008).	73
TABELA 6 - Dados do cultivo em meio efluente sem aporte de CO ₂	81
TABELA 7 - Dados do cultivo em meio efluente com aporte de CO ₂	82
TABELA 8 - Resultados obtidos quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC antes da inoculação de <i>D. subspicatus</i> no fotobiorreator. ...	85
TABELA 9 - Resultados obtidos com o cultivo de <i>D. subspicatus</i> quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes (inicial) e após (final) o cultivo de <i>D. subspicatus</i> no fotobiorreator com TDH de sete dias, para duas repetições do experimento sem o aporte de CO₂	86
TABELA 10 - Resultados obtidos com o cultivo de <i>D. subspicatus</i> quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes (inicial) e após (final) o cultivo de <i>D. subspicatus</i> no fotobiorreator com TDH de sete dias, para duas repetições do experimento com o aporte de CO₂	87
TABELA 11 - Valores do peso seco da biomassa total para o volume trabalhado, peso seco da biomassa em mg e lipídios totais em mg L ⁻¹ e (%) para os experimentos realizados.....	91
TABELA 12 - Proporção relativa (%) dos ésteres de ácidos graxos encontrados para os experimentos em efluente, com e sem aporte de CO ₂	92

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Microalgas, uma abordagem geral	18
3.2 Sobre o crescimento microalgal	20
3.2.1 Luminosidade	20
3.2.2 Temperatura.....	21
3.2.3 Agitação	22
3.2.4 Nutrientes	23
3.2.5 pH	25
3.3 Produção de microalgas.....	26
3.3.1 Regimes de cultivo de microalgas.....	26
3.3.1 Avaliação do crescimento das microalgas.....	27
3.4 Fotobiorreatores	29
3.5 Microalgas e Biorremediação	33
3.5.1 Parâmetros físico-químicos	36
3.6 Microalgas, potencial biotecnológico e energético	38
3.6.1 Biodiesel de microalgas.....	42
3.6.2 Microalgas e Mecanismos de Desenvolvimento Limpo	45
3.7 Sobre a biologia de <i>Desmodesmus subspicatus</i> (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt.	47
4 METODOLOGIA.....	50
4.1 Área de origem do efluente de estudo	50

4.2 Material Biológico	50
4.3 Fotobiorreator tubular de coluna de bolhas	53
4.3.1 Elaboração do fotobiorreator experimental em bancada (I).....	53
4.3.2 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (II)	55
4.3.3 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (III)	55
4.3.4 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (IV)	55
4.4 Análise do crescimento de <i>D. subspicatus</i>	57
4.4.1 Curvas de crescimento.....	57
4.4.2 Velocidade de crescimento (k)	58
4.4.3 Tempo de cultivo (T).....	59
4.4.4 Densidade celular máxima (DCM).....	59
4.5 Caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC	59
4.6 Análise da biomassa de <i>D. subspicatus</i>	60
4.7 Fração lipídica de <i>D.subspicatus</i>	61
4.8 Delineamento experimental e análise dos dados	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (I)	64
5.2 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (II)	66
5.3 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (III)	67
5.4 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (IV).....	74
5.4.1 Análise do crescimento de <i>D. subspicatus</i>	79
5.4.2 Velocidade de crescimento	80
5.4.3 Tempo de cultivo	80
5.4.4 Densidade celular máxima (DCM).....	81
5.4.5 Caracterização Analítica do Efluente da ETE UNISC.....	85
5.4.6 Análise da biomassa e fração lipídica de <i>D. subspicatus</i>	91

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	96
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	98
8 REFERÊNCIAS.....	100
9 ANEXOS	120
ANEXO A – PLANTA DO SISTEMA DE GÁS DO FOTOBIOREATOR	120
ANEXO B - PLANTA DO RESERVATÓRIO DO FOTOBIOREATOR.....	121
ANEXO C – PLANTA DO SISTEMA DE COLUNAS DO FOTOBIOREATOR	122
ANEXO D- LAUDO 1 DE ANALISE DO EFLUENTE.....	123
ANEXO E - LAUDO 2 DE ANALISE DO EFLUENTE	124
ANEXO F - LAUDO 3 DE ANALISE DO EFLUENTE	125
ANEXO G - LAUDO 4 DE ANALISE DO EFLUENTE	126
ANEXO H - LAUDO 5 DE ANALISE DO EFLUENTE.....	127
ANEXO I - LAUDO 6 DE ANALISE DO EFLUENTE	128
ANEXO J - LAUDO 7 DE ANALISE DO EFLUENTE	129
ANEXO K - LAUDO 8 DE ANALISE DO EFLUENTE.....	130

1 INTRODUÇÃO

A imensa biodiversidade, e conseqüente variabilidade na composição bioquímica das microalgas, aliada ao emprego de melhoramento genético e ao estabelecimento de tecnologia de cultivo em grande escala, vêm permitindo que as microalgas sejam utilizadas em diversas aplicações como por exemplo: a extração de betacaroteno, astaxantina e luteína. Além disso, é possível a obtenção de óleo ricos em ácidos graxos de interesse nutricional como o ácido oléico e linoleico (DERNER, 2006; BOROWITZKA, 1999; VÍLCHEZ et al., 1997; UMBLE & KETCHUM, 1997; ROSEMBERG et al., 2008).

Diversos estudos utilizando o cultivo de algas são realizados em áreas como tratamento de águas residuais de processos industriais, detoxificação biológica e remoção de metais pesados. Além disso, estes organismos são muito utilizados como bioindicadores, para detecção de nutrientes e substâncias tóxicas (detergentes, herbicidas, etc) (LOBO et al. 2002; LOBO et al. 2004; BOROWITZKA, 1993; CERTIK & SHIMIZU, 1999; KIRK & BEHRENS, 1999; LEMAN, 1997; BRUNO, 2001; GROBBELAAR, 2004; RICHMOND, 2004).

Sua aplicação também se estende a outras áreas como produção de moléculas com potencial atividade biológica, na agricultura com aproveitamento da biomassa como biofertilizante. Soma se a isso, sua utilização na mitigação do efeito estufa, pela assimilação do dióxido de carbono (CO₂), resultado da queima de combustíveis fósseis e das práticas agrícolas impróprias como, por exemplo, as queimadas. Por fim, possibilitam a produção de biocombustíveis como o biodiesel e o álcool (KIRK & BEHRENS, 1999; MIAO & WU, 2006; PIZARRO et al., 2002; SCHENK et al., 2008; VÍLCHEZ, 1997).

Devido à grande importância que o tema de bioenergia representa sob a ótica econômica e ambiental neste novo milênio, e sendo o Brasil um país-continente rico em recursos aquáticos, é totalmente oportuno e já estão em prática, iniciativas envolvendo o cultivo de algas para fins energéticos. O constante crescimento econômico do Brasil acelera o desenvolvimento das indústrias, que conseqüentemente aumentam o consumo de combustível (SOARES, 2010).

Estimativas conservadoras apontam os valores de 30.000 – 50.000 litros/ ha/ ano, em comparação a 1300 – 2400 litros/ ha/ ano registrados para as espécies vegetais como a palma e a *jatropha* (WILLIAMS, 2007).

Segundo resultados do Balanço Energético Nacional de 2008, o petróleo e seus derivados atingiram 36,7% de participação na matriz energética nacional, mas as reservas de combustíveis fósseis são finitas e não renováveis (EPE, 2009; SOARES, 2010). Contudo, questionamentos como qual a forma de cultivo mais econômica para atividade; quantidade de matéria-prima obtida com algas em comparação com a de outras espécies vegetais oleaginosas; produção de algas com baixo consumo de água possibilidade do uso de insumos baratos (como águas residuais e CO₂ proveniente da exaustão de termelétricas) são algumas das preocupações deste segmento (BOROWITZKA, 1999; DERNER, 2006; MORAIS & COSTA, 2008; SHEEHAN et al., 1998).

Diante de questões como estas, visando contribuir para a mitigação de problemas ambientais inerentes à atividades industriais, em dezembro de 2009, a Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS foi contemplada com o Edital do Grupo AES Brasil - Energia Elétrica e Telecomunicações, que visa investir em pesquisas para a mitigação de emissões atmosféricas provenientes de termoelétricas, em especial o CO₂, frente à questão do aquecimento global.

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo a concepção, construção e operação de um fotobiorreator para cultivo de microalgas na Universidade de Santa Cruz do Sul, utilizando como organismo teste a microalga *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt (CHLOROPHYTA), com fluxo semi contínuo de gases, cultivada em Efluente da Estação de Tratamento de Esgoto da UNISC (ETE-UNISC), avaliando a capacidade de remoção de nutrientes do efluente e o potencial oleaginoso da espécie com vistas no futuro à obtenção de Biodiesel.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o cultivo da microalga *Desmodesmus subspicatus* (CHLOROPHYTA) em efluente advindo da Estação de Tratamento de Esgoto da Universidade de Santa Cruz do Sul (ETE-UNISC), utilizando Fotobiorreator Tubular do tipo coluna de bolhas, com aporte de dióxido de carbono (CO₂) visando futuramente um processo de biorremediação e obtenção de energia (biodiesel).

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um Fotobiorreator tubular do tipo coluna de bolhas em regime semicontínuo de gases, para a produção de biomassa de *D. subspicatus*.
- Cultivar a microalga *D. subspicatus* em Fotobiorreator tubular, para análise do seu desenvolvimento mediante inoculação em Efluente da ETE-UNISC, com aporte de CO₂.
- Comparar o desenvolvimento de *D. subspicatus* em Fotobiorreator tubular com e sem aporte de CO₂, mediante curvas de crescimento e peso seco da biomassa.
- Caracterizar o meio de cultivo (efluente da ETE-UNISC) quanto a parâmetros físico-químicos de qualidade da água, antes e após o cultivo, para analisar a fixação de nutrientes na biomassa da microalga, e a qualidade do efluente resultante do Fotobiorreator frente à legislação ambiental vigente.
- Comparar o perfil de ácidos graxos e o potencial oleaginoso de *D. subspicatus* em Fotobiorreator tubular com e sem aporte de CO₂, mediante Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, visando no futuro a obtenção de biodiesel.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Microalgas, uma abordagem geral

Para os ficologistas, especialistas no estudo das algas, foi predominante a definição destes indivíduos como microorganismos com clorofila “a” e um talo não diferenciado em raízes, caule e folhas (LEE, 1989).

Entretanto, conforme Bicudo e Menezes (2006) a denominação do termo “Alga” engloba ainda grande discussão:

O termo “alga” foi proposto oficialmente como uma categoria taxonômica em 1753, por Lineu, no clássico *Species plantarum*. Após seu nascimento, o termo alga foi usado para determinar uma enorme variedade de organismos e sua interpretação tem sido tão discutida que hoje não se pode mais lhe atribuir um significado preciso. Alga é um termo de uso popular, como palmeira ou grama, utilizado para designar um verdadeiro universo de organismos tão diferentes quanto sua morfologia, reprodução, fisiologia e ecologia, o que torna praticamente impossível sua definição [...]. A natureza essencialmente negativa da caracterização das algas é decorrente da enorme variação de estrutura, formas de reprodução, históricos de vida, processos fisiológicos e de ambientes em que vivem os organismos reunidos sob tal denominação.

Em ficologia aplicada, o termo faz referência às algas microscópicas assim como às bactérias fotossintéticas denominadas no passado por Cianofíceas e atualmente reconhecidas como Cianobactérias (TOMASELLI, 2004)

Para Derner (2006) o termo não tem valor taxonômico, os quais são capazes de realizar a fotossíntese oxigênica e sua caracterização (sistemática) implica na consideração de uma série de critérios (HOEK et al, 1995; RAVEN et al., 2001). Técnicas de biologia molecular atualmente têm sido usadas para a classificação das microalgas (HU, 2004) e elas são encontradas em todo o planeta, predominantemente distribuídas nas águas, mas também encontradas na superfície de todos os tipos de solo. No geral tem vida livre, mas certo número de espécies vive em relações harmônicas, como, por exemplo, o mutualismo entre a cianobactéria *Anabaena azollae* e a macrófita aquática *Azolla filiculoides*. Neste mutualismo a cianobactéria encontra na macrófita um ambiente livre de oxigênio, fator essencial para a fixação do nitrogênio, então a macrófita se beneficia deste nitrogênio também para o seu desenvolvimento (DOUMIT, 2004).

Segundo a classificação de Hoek, et al. (1995), sob a denominação 'microalgas' estão incluídos organismos com dois tipos de estrutura celular:

- Microalgas que apresentam estrutura celular procariótica: com representantes nas Divisões Cyanophyta (cianobactérias) e Prochlorophyta.
- Microalgas que apresentam estrutura celular eucariótica: com representantes nas Divisões Chlorophyta, Euglenophyta, Rhodophyta, Prymnesiophyta (Haptophyta, segundo Teixeira, 2002), Heterokontophyta (Bacillariophyceae, Chrysophyceae, Xanthophyceae etc.), Cryptophyta e Dinophyta

Apesar das diferenças estruturais e morfológicas entre os representantes de cada divisão, estes são fisiologicamente similares e apresentam um metabolismo análogo àquele das plantas (ABALDE et al., 1995). Inserida na Divisão CHLOROPHYTA, do Reino Plantae, está a classe Chlorophyceae, que compreende as algas verdes, dentre estas *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt. São abundantes sobretudo em águas doces. Estas podem ocorrer como células simples ou colônias e como substância de reserva possuem amido e óleo (FRANSCSCHINI, et al, 2010). São responsáveis pela maior parte da produção de oxigênio molecular disponível no planeta a partir da fotossíntese (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004; CHISTI, 2004).

Estes indivíduos (produtores primários) armazenam energia solar, convertendo-a em energia biológica, sendo a biomassa microalgal a base de inúmeras cadeias tróficas nos ambientes aquáticos. Os constituintes deste nível trófico sintetizam nova matéria orgânica a partir de substratos inorgânicos como sais (nutrientes), CO₂ e água. Esta energia biológica é utilizada em sua maior parte como alimento pelos organismos que constituem o segundo nível trófico (consumidores primários), dando continuidade às cadeias alimentares aquáticas (ARREDONDO-VEGA, 1995; DERNER, 2006).

O número exato de espécies microalgais ainda é desconhecido. Atualmente são encontradas citações relatando que podem existir entre 200.000 até alguns milhões de representantes deste grupo. Tal diversidade também se reflete na composição bioquímica e, desta forma, as microalgas são fonte de uma quantidade

ilimitada de produtos como ácidos graxos poliinsaturados, corantes, enzimas etc. (NORTON et al., 1996; PULZ & GROSS, 2004).

3.2 Sobre o crescimento microalgal

Fazendo uma abordagem sobre os aspectos que afetam o crescimento de uma população microalgal, primeiramente é importante salientar que existe uma grande interdependência de parâmetros biológicos, físicos e químicos (RAVEN, 1988). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento algal (DERNER, 2006).

Com relação aos fatores físico-químicos, estes dizem respeito principalmente à iluminação, temperatura e pH, regime hidrodinâmico e disponibilidade de nutrientes (HELLENBUST, 1970; GUILLARD, 1975; EPPLEY, 1977; YONGMANITCHAI & WARD, 1991; LOURENÇO & MARQUES, 2002).

3.2.1 Luminosidade

O efeito da intensidade da luz (irradiância ou iluminação) nos cultivos de microalgas tem sido estudado em detalhes (SOARES, 2010). É através da fotossíntese que as microalgas clorofíceas fixam o carbono necessário para a produção de biomassa, logo a relação entre a síntese de material orgânico como reflexo da produção fotossintética pode ser expressa principalmente pelo incremento da população algal (BALECH, 1977; GLADUE, 1991).

A condição de luz é um dos principais fatores para o desenvolvimento das algas (DUBINSKY, 1990; SÁNCHEZ- SAAVEDRA & VOLTOLINA, 1994). A variação da luz tanto no espaço (profundidade e latitude) quanto no tempo (diariamente e sazonalmente), influencia o tamanho da população (DARLEY, 1982).

A luz utilizada pelas algas fotossintetizantes encontra-se na faixa espectral da radiação solar de 400 a 700 nm, que corresponde à radiação fotossinteticamente ativa. A luz é absorvida pelos pigmentos fotossintetizantes (unidades fotossintéticas). Esses pigmentos são classificados em três grupos: as clorofilas, os carotenóides e as ficolibinas, sendo que cada um difere em sua composição química e apresenta diferente capacidade de absorver luz em determinado comprimento de onda (SUH & LEE, 2003; SOARES, 2010).

Aproximadamente 40% da energia solar que incide sobre a superfície terrestre (num dia ensolarado) constitui a radiação fotossinteticamente ativa, representando cerca de 400 W m^{-2} ou $1.800 \mu\text{mol fóton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Uma vez captada pelos pigmentos fotossintéticos, a energia luminosa é transferida para os centros de reação onde será utilizada para as reações fotoquímicas (MASOJÍDEK et al., 2004).

Em cultivos fotoautotróficos, a quantidade de energia luminosa recebida pelo sistema fotossintético irá repercutir na quantidade de carbono que pode ser fixado, determinando conseqüentemente a produção de biomassa e a taxa de crescimento das culturas microalgais (DERNER, 2006; TZOVENIS et al., 2003). Contudo o aumento da concentração celular microalgal, no decorrer do cultivo, gera o efeito de auto-sombreamento entre as células, diminuindo a quantidade de luz disponível por célula. Como resultado, a eficiência fotossintética diminui, acarretando uma diminuição da produtividade de biomassa (SOARES, 2010).

O aumento da intensidade luminosa gera um aumento da produtividade de biomassa até certo ponto, porém, acima deste ponto, os fotossistemas das unidades fotossintéticas são danificados e a produtividade de biomassa diminui. Estes danos causados pelo excesso de luz são descritos usando o termo fotoinibição. Por estes motivos, é importante manter um nível adequado de luz durante todo o período de cultivo celular (RUBIO et al., 2003; RICHMOND, 2004).

3.2.2 Temperatura

A temperatura é um dos fatores ambientais mais importantes na composição bioquímica das microalgas (RICHMOND, 2004). Segundo Nishida e Murata (1996), um decréscimo na temperatura de cultivo abaixo do nível ótimo (cada espécie possui

seu nível ótimo) geralmente aumenta o grau de insaturação dos sistemas de membrana lipídica das células (que promovem as trocas com o meio). Ainda, segundo os mesmos autores, o aumento da estabilidade e fluidez das membranas celulares, particularmente as membranas tilacóides, protege o “maquinário” fotossintético da fotoinibição (redução do crescimento celular em função do excesso de luz que cessa a fotossíntese) a baixas temperaturas.

Além disso, a temperatura influencia no aumento ou diminuição do conteúdo lipídico celular, seja por classe ou composição relativa dos lipídios (MURATA, 1989; RICHMOND, 2004). Conforme Thompson et al. (1992), decréscimos na temperatura de cultivo abaixo do ótimo fisiológico podem resultar no aumento da produção de enzimas como um mecanismo adaptativo para manutenção das taxas fotossintéticas e respiração.

A temperatura de cultivo é tida como influente também no conteúdo celular das quotas de carbono e nitrogênio, bem como no volume celular de modo que a temperatura ótima para o crescimento pode acarretar células com tamanho, volume celular de carbono e nitrogênio reduzido. Em outras palavras, é necessário mais carbono e nutrientes para produzir uma célula com a mesma taxa de crescimento que em uma temperatura fora do ótimo fisiológico (GOLDMAN, 1980; RHEE, 1982; HARRIS, 1988; DARLEY, 1982).

3.2.3 Agitação

A agitação que promove a mistura da suspensão microalgal é um fator de extrema importância pelo fato de que possibilita o acesso das células à luz, auxilia a troca de gases, diminui o efeito da estratificação térmica bem como propicia melhor distribuição dos nutrientes (SOARES, 2010). Todos estes fatores influenciam na produtividade da biomassa microalgal (SUH, 2003).

Nos cultivos de bancada a agitação pode ser obtida com auxílio de mesa agitadora, ou mesmo aeração dos frascos de cultivo através da introdução de ar atmosférico ou enriquecido com CO₂, via mangueiras de silicone. Em cultivos de maior escala a mistura depende do sistema utilizado. Tanques pequenos, via de

regra, usam agitação por aeração enquanto que tanques grandes necessitam de pás giratórias ou bombas de recirculação (TAVARES & ROCHA, 2003).

Nos fotobiorreatores tubulares, o processo de mistura da suspensão microalgal é realizado por bombas mecânicas (centrífuga, excêntrica, deslocamento positivo-volumétrica, parafuso, peristáltica) ou por bombeamento por borbulhamento de ar (LOURENÇO, 2006; OWENDE & BRENNAN, 2009).

A agitação nos fotobiorreatores faz referência ao perfil hidrodinâmico do cultivo, que caracteriza o regime de escoamento da suspensão. A otimização da produtividade de biomassa microalgal requer um fluxo turbulento. No entanto, um fluxo turbulento muito alto produzido pelo bombeamento pode causar um estresse hidrodinâmico, que resulta em dano celular (SOARES, 2010). Os principais fatores que estão relacionados ao estresse hidrodinâmico são: geometria do fotobiorreator, que determina a frequência da passagem das células em suspensão pela bomba; o tipo de bomba envolvida; a morfologia celular, e as condições fisiológicas das células (VONSHAK et al., 1982; GUDIN & CHAUMONT, 1991).

3.2.4 Nutrientes

Para o crescimento ótimo das espécies, é necessária uma série de nutrientes, destacando que dependendo das espécies, ocorrem variações relacionadas principalmente à quantidade dos nutrientes no meio. Ainda assim, estas necessidades nutricionais são dependentes de distintas condições ambientais (ABALDE et al., 1995).

Quanto aos macronutrientes, as microalgas requerem carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O), hidrogênio (H) e fósforo (P), além de cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S) e potássio (K). Como micronutrientes, geralmente requerem ferro (Fe), manganês (Mn), cobre (Cu), molibdênio (Mo) e cobalto (Co), enquanto algumas microalgas também necessitam baixas concentrações de vitaminas no meio de cultura (GUILLARD, 1975). Os principais elementos limitantes do crescimento são o carbono, nitrogênio, o fósforo e o ferro (LOURENÇO, 2006, RICHMOND, 2004; SOARES, 2010).

As microalgas de uma mesma espécie possuem diferentes quantidades de proteínas, carboidratos e lipídeos, quando cultivadas em meios com diferentes quantidades de nutrientes (WIKFORS, 1986; FÁBREGAS et al., 1996; OTERO et al., 1998).

O **carbono** é considerado um dos elementos mais importantes, uma vez que constitui cerca de 50% da biomassa microalgal (SOARES, 2010). Conforme a fonte de carbono empregada, os cultivos de microalgas podem ser classificados em três tipos:

- **Heterotrófico** – o fornecimento de carbono é realizado pela introdução de compostos orgânicos apropriados ao meio de cultura (glicose, glicerol, entre outros);
- **Mixotrófico** – o carbono é disponibilizado tanto por meio de compostos orgânicos quanto pelo CO₂ atmosférico (CO₂ inorgânico);
- **Autotrófico (fotoautotrófico)** – a única fonte de carbono disponibilizada é o CO₂ inorgânico. Neste caso, o dióxido de carbono pode ser disponibilizado às células por difusão (do ar atmosférico) ou por borbulhamento de ar através de compressores diretamente no meio de cultura.

No meio de cultura, o carbono inorgânico pode estar na forma de CO₂, ácido carbônico (H₂CO₃), bicarbonato (HCO₃⁻) ou carbonato (CO₃²⁻) e suas proporções dependem do pH. A maioria das espécies microalgais é fotoautotrófica, ou seja, através da fotossíntese obtém-se energia da luz para fixar o carbono a partir do CO₂. (SOARES, 2010; LOPES, 2007).

Além do carbono, segundo Hu (2004), o **nitrogênio** perfaz em média cerca de 7-10% do peso seco da biomassa microalgal e é essencial à constituição das proteínas estruturais e funcionais das células algais. A fotossíntese prossegue sob limitação do nitrogênio, porém em taxas reduzidas. Sob estas circunstâncias o fluxo de fixação do carbono na fotossíntese é direcionado da função de síntese protéica para priorizar a síntese de lipídios ou carboidratos (HU, 2004, RICHMOND, 2004).

Em contraste aos lipídios polares de células suficientes em nitrogênio, os lipídios neutros, na forma de triacilglicerol tornam-se os componentes predominantes entre os lipídios celulares quando há deficiência de nitrogênio (THOMPSON, 1996). Contudo, a síntese de lipídios neutros ou carboidratos sob limitação de nitrogênio é

intraespecífica, ou seja, varia inclusive dentro da própria espécie biológica destacando que sua significância fisiológica não está clara (RICHMOND, 2004).

Outro macronutriente que desempenha papel fundamental no metabolismo celular das microalgas é o **fósforo**, por estar presente em diversos componentes funcionais e estruturais requeridos ao crescimento normal e desenvolvimento das microalgas. De acordo com Goldman (1980), quando nutrientes estão disponíveis em excesso e a luz é o fator limitante do crescimento, muitas espécies de algas apresentam notável consistência no teor de fósforo, cerca de 1% do peso seco.

Alguns sintomas da depleção de fósforo são similares aos observados em culturas deficientes em nitrogênio, onde o conteúdo de clorofila *a* decresce enquanto o teor de carboidratos aumenta tanto em células eucarióticas como procarióticas (Healey, 1982).

Em linhas gerais uma relação carbono: nitrogênio: fósforo que serve de modelo inicial para os estudos com microalgas é a de 106 C: 16 N: 1 P $\mu\text{mol L}^{-1}$ ou o equivalente a 42:7:1 mg L^{-1} , o chamado **Número de Redfield**. Contudo esta proporção amplamente utilizada se aplica especialmente ao fitoplâncton marinho. (REDFIELD, 1958; ANDERSEN, 2005; RICHMOND, 2004; GOLDMAN et al., 1977).

Entretanto esta relação é uma aproximação da composição avaliada sobre grande escala de tempo e espaço e não descreve as condições das células individuais ou populações, a relação ótima varia entre as espécies (ANDERSEN, 2005).

3.2.5 pH

O consumo das formas inorgânicas de carbono pelas algas eleva o pH, devido ao fato do aparato fotossintético destes organismos transportar íons hidróxido para o exterior da célula, reação catalisada pela enzima anidrase carbônica, associado à captação de íons H^+ para o interior das membranas tilacóides (LOPES, 2010; CUARESMA et al., 2006).

Oswald (1988) reporta que valores de pH variantes entre 8-11 auxiliam na desinfecção de patógenos das águas residuárias, visto que em valores acima de 10 há completa inibição bacteriana em lagoas de estabilização.

Segundo Nurdogan e Oswald (1995), o pH influencia a eficiência de remoção de nitrogênio e fósforo através da volatilização da amônia pela reação: $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$, além da precipitação de ortofosfato.

3.3 Produção de microalgas

3.3.1 Regimes de cultivo de microalgas

Os três tipos básicos de operação de sistemas de cultivos de microalgas são: **batelada**, **semicontínuo** e **contínuo**, descritos a seguir:

Nos cultivos em **batelada** ou estanque, as células de microalgas são inoculadas ao meio de cultivo e após inoculação não ocorre adição de nutrientes ao longo do desenvolvimento da cultura. O cultivo é encerrado quando os nutrientes da cultura se esgotam ou quando o produto desejado for produzido. Este tipo de cultivo é caracterizado por apresentar fases distintas de crescimento. A duração de cada fase depende basicamente de fatores como a espécie cultivada e as condições de cultivo oferecidas (COUTTEAU, 1996).

Os cultivos em batelada podem ser utilizados em pesquisas e em cultivos comerciais. Como exemplo de aplicações em pesquisa, pode-se mencionar a elucidação das transformações químicas sofridas pelas microalgas ao longo do desenvolvimento, nas diferentes fases de cultivo.

Lourenço et al. (2004) avaliaram a alteração da composição química, de 12 espécies de microalgas marinhas, em cultivo estanque. Os resultados mostraram que a razão atômica de carbono:nitrogênio (C:N) nas células aumentou ao longo do desenvolvimento dos cultivos. Os autores concluíram que proteínas e nitrogênio total são mais abundantes nas células na fase exponencial de crescimento, quando os nutrientes do meio de cultura são fartos; porém, as concentrações de proteínas e de nitrogênio diminuem na fase estacionária de crescimento (SOARES, 2010).

Ainda, conforme o mesmo autor, as concentrações de carboidratos e lipídeos, por célula de microalga, são menos abundantes na fase exponencial de crescimento (onde a demanda por energia é alta) e aumentam na fase estacionária (EMDADI & BERLAND, 1989; REIREZ et al., 1989). Em cultivos comerciais, evita-se a fase de declínio, geralmente a colheita da biomassa é feita quando a densidade celular atinge seu valor máximo, que ocorre ao final da fase exponencial (LOURENÇO, 2006).

No cultivo **semicontínuo**, um volume conhecido de cultura microalgal é removido, periodicamente, e substituído por meio de cultivo novo. Neste tipo de cultivo, as células tendem a sofrer poucas alterações ao longo do tempo (pois elas permanecem em condições de crescimento sem fatores limitantes), ao contrário do que acontece em cultivos estanques (SOARES, 2010).

A repetição das diluições em dias consecutivos permite remover grande biomassa de alga diariamente. Teoricamente este processo pode ser operado indefinidamente, porém a manipulação freqüente da cultura, ocasionada pelas diluições sucessivas, pode acarretar problemas de contaminação. Sendo assim, na prática, os cultivos semicontínuos devem ser reiniciados periodicamente (RICHMOND, 2004; ANDERSEN, 2005; SOARES, 2010).

No cultivo **contínuo**, um fluxo constante de cultura microalgal é removido do biorreator simultaneamente com a entrada de meio de cultivo fresco. As taxas de crescimento são reguladas e a densidade celular é controlada automaticamente por sensores ópticos. A concentração de células e nutrientes é mantida constante e o cultivo atinge estado estacionário. O cultivo pode permanecer em estado estacionário por um período prolongado, conseqüentemente, são produzidas grandes quantidades de células de alta qualidade e homogeneidade. No entanto, o cultivo contínuo tem um custo elevado devido à necessidade de automação e condições de temperatura e iluminação constantes (MATA et al., 2009).

3.3.1 Avaliação do crescimento das microalgas

Em cultivos de microalgas, e de outros microrganismos, podem ser aplicados determinados parâmetros de crescimento (empregando fórmulas) e representações gráficas para ilustrar o desenvolvimento das culturas (VONSHAK, 1990).

As **curvas de crescimento** constituem o método mais utilizado para se avaliar o crescimento da população de microalgas em cultivo, expressando a relação entre incremento da biomassa ou o número de organismos num determinado volume (densidade celular) pelo tempo (DERNER, 2006). Num cultivo do tipo estacionário, teoricamente, a curva de crescimento apresenta cinco fases distintas (Figura 1).

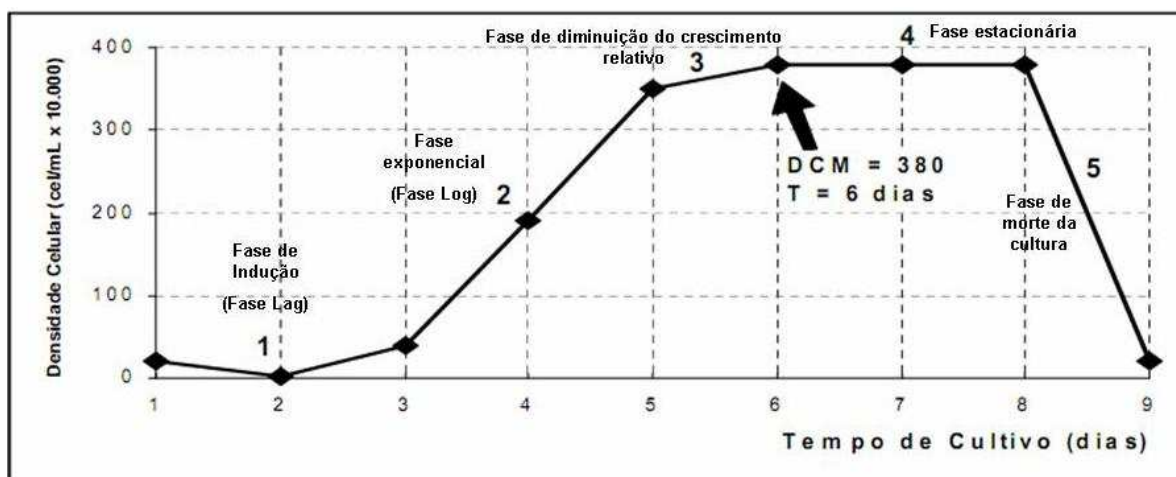


Figura 1: Curva de crescimento de um cultivo estacionário de microalgas (DERNER, 2006).

A partir da figura, as seguintes fases são assim descritas:

- 1. Fase de indução (Fase Lag):** É a fase após a repicagem, período de adaptação da cultura celular às condições de cultivo, com possível redução da densidade, mas não há incremento populacional.
- 2. Fase Exponencial (Fase Log):** é a fase de crescimento na qual a biomassa se duplica sucessivamente em intervalos regulares de tempo, ou seja, a cultura apresenta uma elevada e constante (logarítmica) velocidade (taxa) de crescimento;
- 3. Fase de Diminuição do Crescimento Relativo:** o tempo requerido para a duplicação celular aumenta, reduzindo assim a taxa de crescimento. Isto é conseqüência da diminuição na quantidade de nutrientes disponíveis no meio (os quais foram assimilados pelas microalgas) e, principalmente, da redução da atividade fotossintética devido ao incremento da densidade microalgal, sendo que desta forma, a quantidade de energia luminosa por célula microalgal torna-se bastante reduzida (autossombreamento);

4. **Fase Estacionária:** nesta fase não há incremento líquido da população (a densidade celular permanece constante), a taxa de crescimento está compensada pela taxa de mortalidade, podendo existir alta contaminação.
5. **Fase de Morte da Cultura:** é resultado da depleção de nutrientes e do autossombreamento a um nível que não suporta o crescimento, bem como da possível ocorrência de um nível tóxico de metabólitos.

Apesar da possibilidade em representar a curva de crescimento conforme a figura anterior, nos cultivos comumente não é possível distinguir a Fase 1. Esta, pode não acontecer em todas as culturas ou ocorrer muito rapidamente. Da mesma forma, a densidade celular na fase estacionária pode ser caracterizada por pequenos acréscimos e decréscimos na população microalgal, sendo que, ao ajustar a curva (regressão logística) esta fase é representada graficamente por uma reta (DERNER, 2006).

Segundo Oliveira (1993), cabe ressaltar que na impossibilidade de um modelo específico de representação do crescimento microalgal, em cultivos estacionários, o modelo logístico de análise de regressão pode ser utilizado, entretanto, este somente pode ser empregado como ajuste para representação do crescimento até o início da fase estacionária. A partir deste momento, conforme Costa Neto (1977), não ocorre incremento líquido da população, em seguida há decréscimo do número de células, com isso o coeficiente de regressão pode se tornar menor do que o aceitável ($r^2 \geq 0,80$) em sistemas biológicos.

3.4 Fotobiorreatores

Conforme Muñoz (2005), fotobiorreatores podem ser definidos como sistemas utilizados para o desenvolvimento de reações fotossintéticas. Estes equipamentos podem ser classificados de acordo com o modo de alimentação da mistura reagente (descontínuo ou contínuo), através do tipo de escoamento (mistura completa ou pistonado), pelo tipo de cultivo empregado (células livres ou imobilizadas) e através da configuração do biorreator (reatores abertos ou fechados).

Lopes (2007), também cita que durante o tratamento biológico contínuo de poluentes, a eficiência do processo, a estabilidade e os custos são significativamente influenciados pela hidrodinâmica do meio reacional. As configurações mais comuns utilizadas em fotobiorreatores são os reatores tubulares do tipo coluna de bolhas e sistemas tubulares dispostos em espiral (MERCHUK, 2004; MOLINA GRIMA et al., 1999).

No que tange à configuração, fotobiorreatores para cultivo de organismos fotossintéticos podem ser classificados em:

- **Sistema abertos:** Os sistemas de cultivos estão expostos em contato direto com a atmosfera.
- **Sistemas fechados:** O contato com a atmosfera é significativamente reduzido ou inexistente.

Entre os sistemas abertos, os mais utilizados são os tanques circulares, com agitação por meio de pás ou borbulhamento e do tipo "*raceway ponds*", que consiste em tanques rasos, elipsóides e alongados, com pás que promovem a circulação do cultivo, conforme a Figura 2.

Os fatores determinantes do crescimento e produção microalgal nestes sistemas são a profundidade, taxa de agitação e densidade populacional (RICHMOND, 2004). A limitação destes sistemas está fundamentada nas elevadas taxas de evaporação de água, requerimento de amplas áreas para a construção, dificuldade de controle operacional, baixa produtividade e elevados riscos de contaminação (RACAULT & BOUTIN, 2005).



Figura 2: Tanque do tipo “*raceway pond*” típico para sistema aberto (<http://mybelojardim.com/category/aquicultura/algas-aquicultura/>).

Quanto aos sistemas fechados, estes possibilitam uma grande variedade de configurações e incrementam significativamente o desempenho dos cultivos (BOROWITZKA, 1999).

Segundo Borowitzka (1999), fotobiorreatores para o cultivo em massa de microalgas e para a biorremediação de compostos poluentes devem ser dimensionados a partir dos seguintes critérios: elevada eficiência de utilização da energia luminosa, possuir eficiente sistema de mistura e controle das condições da reação, baixo estresse hidrodinâmico das células e facilidade de escalonamento.

Entre os sistemas fechados destacam-se os Fotobiorreatores tubulares do tipo coluna de bolhas, dispostos vertical ou horizontalmente, tipicamente representados na figura 3.



Figura 3: Fotobiorreator tubular verticalmente inclinado para o cultivo fechado de microalgas (<http://www.organicmechanic.com/product/algae-biofuel>).

Existem ainda configurações de Fotobiorreatores fechados também muito utilizadas do tipo “*air-lift*”, “*flat-plate*” e arranjos tubulares em espiral “*Biocoil*” (MERCHUK, 2004; MOLINA GRIMA et al., 1999). A Tabela 1 mostra um comparativo entre os sistemas aberto e fechado para o cultivo.

TABELA 1 - Comparativo entre os sistemas aberto (lagoas) e fechado (Fotobiorreatores) para o cultivo de microalgas (SOARES 2010), adaptado de PULZ & GROSS (2004).

Parâmetros	Tanques (lagoas) abertos	Fotobiorreatores (sistemas fechados)
Custo de implantação	Baixo	Alto
Custo de operação	Baixo	Alto
Risco de contaminação	Extremamente alto	Baixo
Controle das espécies	Difícil	Fácil
Evaporação da cultura	Extremamente alta	Insignificante
Eficiência de utilização da luz	Baixa	Alta
Qualidade da biomassa	Baixa	Alta
Reprodutibilidade dos parâmetros de produção	Difícil	Fácil
Controle do processo	Difícil	Fácil
Padronização	Muito difícil	Possível
Ação de chuvas	Afeta diretamente a produção	Insignificante, pois o sistema fechado permite a produção com chuva
Produtividade de biomassa	Baixa	3 a 5 vezes > lagoa

3.5 Microalgas e Biorremediação

As possibilidades de aplicação das microalgas no tratamento de águas residuais são fundamentalmente remoção de nutrientes e metais pesados. Existem estudos também sobre a utilização destes organismos na remoção de compostos orgânicos tóxicos, como fenóis e clorofenóis (DINIS et al. 2001; HIROKA et al., 2003; LIMA et al. 2004).

Conforme Oswald (1988), nas lagoas fotossintéticas o nitrogênio orgânico é convertido em nitrogênio amoniacal ou em nitrogênio gasoso. Este último é produzido através de desnitrificação heterotrófica na parte anaeróbia da lagoa e é libertado para a atmosfera juntamente com o metano. O nitrogênio amoniacal é assimilado pelas

algas durante o seu crescimento. O excedente é convertido em hidróxido de amônio, que a pH elevado é libertado para o ar durante agitação suave. O fósforo também é assimilado ou precipita a pH elevado sob a forma de fosfato de cálcio.

Quanto à remoção de metais pesados, conforme Tam et al. (1998), espécies como *Chlorella* spp. e *Scenedesmus* spp. são eficientes na remoção e recuperação de metais. Ainda conforme o mesmo autor, o mecanismo de remoção de metais pesados resulta desses microorganismos possuírem uma carga elétrica superficial negativa e, portanto, uma afinidade para os metais pesados, que se apresentam normalmente como cátions.

Estes protistas concentram certos metais pesados cerca de 1000 vezes mais nas suas células do que as concentrações existentes no meio exterior. Esta bioampliação depende da concentração das células, tipo e concentração de metais pesados, da sua interferência com outros íons, da forma como as células são pré-tratadas e das condições ambientais (BECKER, 1994; TAM et al., 1998).

A idéia do uso de microalgas em processos de biorremediação foi inicialmente proposta por Oswald e Gotaas (1957), mas ganhou impulso a partir da década de 80 (PROULX & DE LA NÖUE, 1988; OSWALD, 1988; CHEVALIER & DE LA NÖUE, 1985).

Sistemas de microorganismos são hábeis para eliminar de forma eficiente compostos de nitrogênio e fósforo responsáveis pelos problemas da eutrofização (CHEVALIER & DE LA NÖUE, 1985; LALIBERTE et al., 1992). O uso de microalgas para biorremediação apresenta diversas vantagens (ARONSON et al., 1980; SOEDER & BINSACK, 1978; TALBOT & DE LA NÖUE, 1988) tais como:

- a) utilização de energia abundante (luz solar);
- b) produção de biomassa para diversos fins como: alimentação animal (desde que o efluente não apresente metais pesados), biofertilizantes e biogás;
- c) obtenção de produtos de alto valor agregados e de química fina.

Algumas espécies de algas, como as diatomáceas, por exemplo, encontram uso também na avaliação da qualidade dos sistemas aquáticos, para os quais, inclusive, já foi sugerido um índice de poluição baseado nos gêneros de algas presentes, a nível específico (TRAINOR, 1983). Bem como na identificação de

classes particulares (por exemplo, Bacillariophyceae) (LOBO et al. 2002; LOBO et al. 2004).

Entre as espécies utilizadas para a remoção do excesso de nutrientes de efluentes, assim como para a produção de biomassa para fins de bioenergia como biodiesel, etanol e hidrogênio, ou para extração comercial, como por exemplo pigmentos e lipídios, a atenção especial está em torno das clorofíceas (*Chlorella* spp., *Scenedesmus dimorphus*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*) e algumas cianobactérias (*Spirulina* spp., *Arthrospira* spp.) (BOROWITZKA, 1999).

Culturas em massa de algas podem contribuir de forma significativa na redução da eutrofização resultante da ação antrópica. Os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus* têm sido utilizados em estudos que visam a remoção de nutrientes (TWIST et al., 1997; TWIST et al., 1998; GONZALES et al., 1997; LAU et al., 1998; ROBINSON, 1998).

Aslan e Kapdan (2006), sob iluminação artificial constataram a remoção média de 21,2 mg L⁻¹ do nitrogênio amoniacal. A cultura removeu em média 7,7 mg L⁻¹ da concentração inicial de PO₄-P, totalizando 78% de eficiência.

Mulbry et al., (2008) investigaram a produtividade, o conteúdo de nutrientes e sua assimilação por algas verdes filamentosas, cultivadas em *turf scrubbers*¹ com distintas concentrações de efluente de esterco bovino, bruto e anaerobicamente tratado. Não encontraram diferença significativa na produtividade das algas, bem como no conteúdo celular de nitrogênio e fósforo e seus valores de assimilação, comparadas com e sem suplementação de dióxido de carbono.

Entretanto, cabe aqui ressaltar que num sistema como este, de “*turf scrubber*”, aberto, com controle apenas de vazão do efluente que banha o substrato de algas, não existe somente uma espécie de alga filamentosa, mas sim a formação de um biofilme, com bactérias, fungos e outras microalgas que satisfazem suas

¹ *Algae turf scrubber* – popularmente conhecido como “tapete de algas”, consiste em uma tela de nylon sobreposta à lâmina d’água do efluente onde diversas espécies de algas se desenvolvem fixadas no local tendo a tela como ponto de fixação. Crescem pela remoção dos nutrientes que banham a tela. O patente está registrada para o Biólogo norte americano Walter Adey, do Museu de História Natural de Washington, capital (MULBRY et al., 2008).

necessidades nutricionais no local. Com isso a remoção se deve ao sistema estabelecido naturalmente, não se pode atribuir o mérito a um ou outro organismo em especial, mas sim à relação de equilíbrio estabelecida naturalmente, além da possível variação da riqueza e diversidade das espécies ao longo do tempo.

Dönmez et al. (2008) trabalharam com a remoção de corantes de indústria têxtil com a cianobactéria *Phormidium* sp. imobilizada com suporte a base de alginato de cálcio. Os resultados obtidos variaram de 50 à 88% de remoção do corante em todas as concentrações testadas.

Em outro estudo sobre o assunto, Kaya e Picard (1995) estudaram a imobilização da *Scenedesmus bicellularis* utilizando quitosana para remoção de corantes. O ponto ótimo para a remoção dos corantes foi obtido com as células imobilizadas em pH de 8.5, independente do corante testado. Além disso, a imobilização proporcionou maior eficiência, uma vez que os rendimentos das cepas livres foram significativamente menores quando comparados com a cepa imobilizada em alginato de cálcio.

Hodaifa et al. (2008) investigaram o uso de efluente industrial, a água de enxágue industrial proveniente da centrifugação do óleo de oliva, para a produção de biomassa de *Scenedesmus obliquus*. Constataram que a maior síntese protéica durante a fase exponencial de crescimento foi de 3,7 mg L⁻¹ para 50% de água de enxágue. A biomassa de lipídios, segundo os autores, foi dependente da porcentagem de água residual utilizada como meio nutritivo, alcançando os maiores teores de ácidos graxos mono-insaturados, poli-insaturados e ácidos graxos essenciais em 100% de água de enxágue como meio de cultivo.

3.5.1 Parâmetros físico-químicos

A **alcalinidade** é a característica que consiste na capacidade de as águas neutralizarem compostos ácidos, devido a presença de bicarbonatos, carbonatos e hidróxidos, quase sempre de metais alcalinos ou alcalinos terrosos (sódio, potássio, cálcio, magnésio, e outros) e, ocasionalmente boratos, silicatos e fosfatos. É expressa em miligrama por litro de carbonato de cálcio equivalente (NBR 9896/1993). Auxilia na determinação da dosagem das substâncias flocculantes, no tratamento da água e

de despejos industriais e junto com outros parâmetros analisados, fornece informações para o estudo das características corrosivas ou incrustantes da água.

A **demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅)** mensura a quantidade de oxigênio necessária aos microorganismos que promovem a estabilização da matéria orgânica de uma amostra e constitui um dos parâmetros mais utilizados para medir a quantidade de matéria orgânica. O tempo de cinco dias é determinado para efeito de comparação (BRAGA et al., 2005).

Já a **demanda química de oxigênio (DQO)** é uma medida do equivalente de oxigênio da porção de matéria orgânica na amostra que é susceptível à oxidação, com dicromato de potássio. Mede indiretamente a carga de matéria orgânica contida no efluente. A DQO é um parâmetro indispensável na caracterização da qualidade de esgotos domésticos e efluentes industriais. Constitui, juntamente com a DBO₅, uma metodologia muito aplicada na determinação da matéria orgânica em estações de tratamento, como também na determinação do nível da poluição orgânica em recursos hídricos naturais (APHA, 2005).

O **fósforo** é um elemento fundamental para todos os seres vivos. Ocorre em águas naturais sob a forma de fosfatos e fosfatos organicamente ligados. Os fosfatos orgânicos são provenientes da matéria orgânica dissolvida em suspensão no efluente. Sobretudo sua presença em excesso contribui para o processo de eutrofização de corpos d'água (POHLING, 2009).

O **nitrogênio amoniacal** pode estar presente na água, tanto na forma ionizada (NH₄⁺) como na forma tóxica não ionizada (NH₃) devido ao processo de degeneração biológica de matéria orgânica animal e vegetal. É normalmente expresso em miligramas de nitrogênio por litro (NBR 9896/1993). Em uma análise de água os compostos de nitrogênio são registrados como: nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal, nitrogênio Kjeldahl, nitrato, nitrito. A presença de compostos de nitrogênio na água é usualmente admitida como indicação da presença de matéria orgânica (JERÔNIMO, 1998).

De acordo com as condições existentes na água, a amônia pode acumular-se na água ou transformar-se em nitrito e/ou nitrato pela ação de bactérias aeróbias. Este processo é conhecido como nitrificação. O processo inverso também é possível quando ocorre a redução dos nitratos à amônia ou até a nitrogênio via ações

microbianas e sob certas condições físico-químicas. Este processo é chamado de desnitrificação. A amônia somente é estável em águas alcalinas (JERÔNIMO, 1998; APHA, 2005).

O íon amônio (NH_4^+) é muito importante para os organismos produtores, em especial as microalgas, pois sua absorção é energeticamente mais viável. Para este íon, não há necessidade de redução no interior da célula, como ocorre com o nitrato, que é reduzido pela enzima nitrato-redutase até amônio. Sua concentração nas camadas onde se encontra o fitoplâncton, em ambientes naturais, é geralmente muito baixa. Daí o fato do nitrato constituir-se, na maioria dos casos, como principal fonte de nitrogênio para os vegetais aquáticos (ESTEVES, 1998). O **nitrogênio Kjeldahl** é a soma do nitrogênio orgânico e nitrogênio amoniacal, é a determinação do nitrogênio no seu estado trivalente (APHA, 2005).

3.6 Microalgas, potencial biotecnológico e energético

As características metabólicas das microalgas fazem com que estes microrganismos apresentem uma importante fonte de recursos a serem explorados. associado ao metabolismo fotossintético, a respiração e a fixação de nitrogênio constituem importantes rotas metabólicas, passíveis de serem exploradas biotecnologicamente para diversos propósitos (SUBRAMANIAN e THAJUDDIN, 2005; LOPES, 2007).

A Figura 4 mostra uma síntese do potencial uso das microalgas a partir dos avanços e tendências no campo da biotecnologia. Mostra os produtos metabólicos importantes comercialmente, representa de forma esquemática simplificada os processos celulares envolvidos na biosíntese de vários produtos derivados. Os cloroplastos podem atuar como fábricas de proteínas e hidrogênio, o núcleo desempenha fundamental papel no controle metabólico.

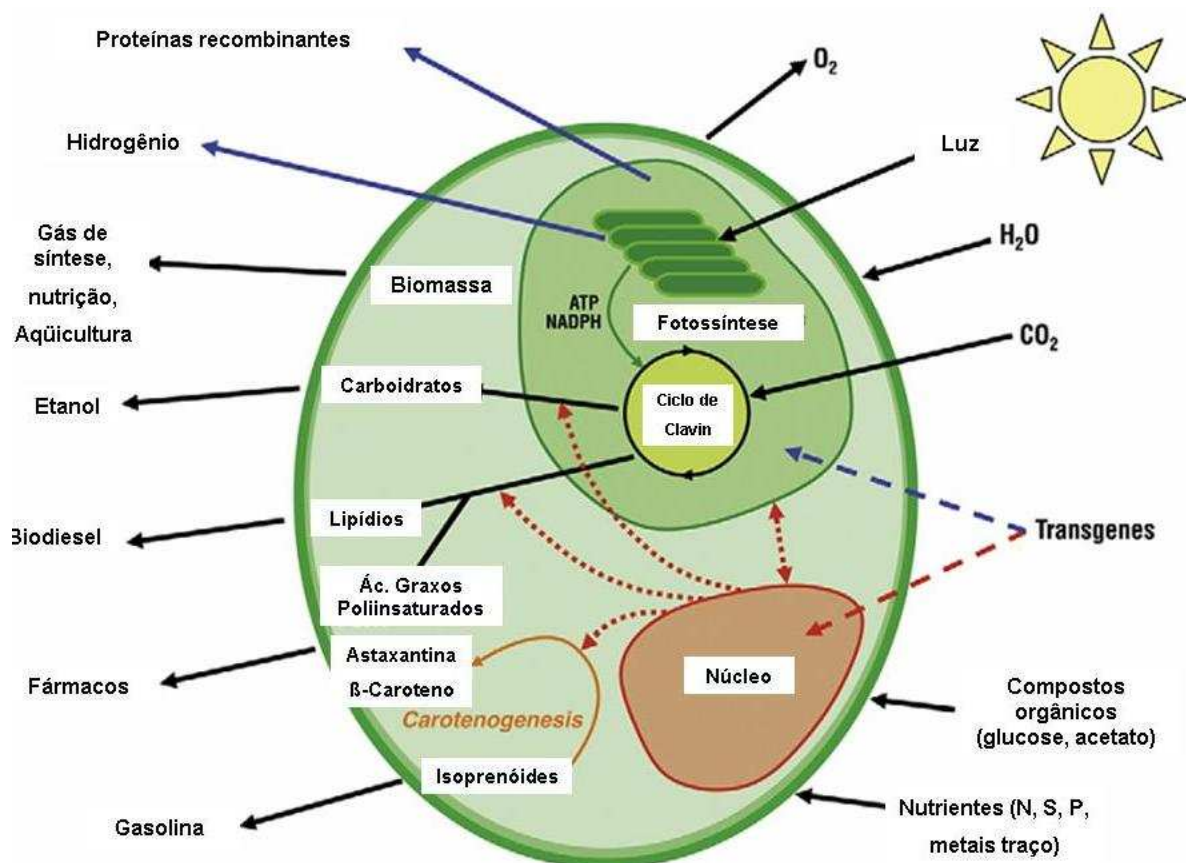


Figura 4: Esquema sobre o potencial de aplicação das microalgas (Adaptado de ROSENBERG et al., 2008).

A produtividade por área destes organismos é muito elevada se comparada a processos convencionais de produção de nutrientes, constituindo uma importante reserva de proteínas e outras substâncias celulares que podem ser utilizadas, desde que bem exploradas tecnologicamente (LOPES et al., 2007; BOROWITZKA, 1999; RICHMOND, 2004).

As microalgas mostram potencial aplicação em biotecnologia ambiental, como resultado da sua habilidade em assimilar nutrientes como matéria orgânica, NO₃⁻, PO₄³⁻, NH₄⁺, CO₂ e metais pesados (ONO & CUELLO, 2007; PEÑA et al., 2004; ZEPKA et al., 2007).

De acordo com Brown et al., (1989) de 90 a 95% da biomassa seca das microalgas é constituída por proteínas, carboidratos, lipídios e minerais, no restante os ácidos nucléicos. As diferenças entre classe e condições de cultivo é que determinam as variações entre as proporções destes compostos.

Algumas espécies têm sido amplamente empregadas na aquicultura, na alimentação humana e animal, na agricultura, no tratamento de águas residuais, na redução do dióxido de carbono da atmosfera, em substituição aos combustíveis fósseis e na obtenção de inúmeros compostos (DERNER, 2006; GUILLARD, 1975; GOLDMAN, 1977; BECKER, 1988; DE PAUWN & PERSOONE, 1988; METTING & PYNE, 1986; OSWALD, 1988; BOROWITZKA, 1993; MOLINA GRIMA et al., 1999; LOURENÇO, 1996; VÍLCHEZ et al., 1997; ILLMAN et al., 2000; RICHMOND, 2004). A Tabela 2 apresenta alguns produtos obtidos de microalgas.

A marcada influência das condições ambientais e nutricionais na morfologia e composição bioquímica celular das microalgas constitui uma vantagem, visto que dentro de certos limites é possível a obtenção de biomassa com composição desejada para uso comercial (FÁBREGAS et al., 1996; ARREDONDO-VEGA, 1995; OTERO et al., 1998). A possibilidade de associar o tratamento de resíduos com produção de insumos, tem sido explorada visando a estabilização de compostos poluentes, com produção paralela de biomoléculas de interesse comercial, por exemplo, pigmentos, ácidos graxos, fertilizantes, biocombustíveis como etanol, biodiesel, hidrogênio e metano (LOPES, 2007; CHISTI, 2007).

Entre os anos de 1978 e 1996, o escritório de desenvolvimento de combustíveis, do departamento de energia dos Estados Unidos, desenvolveu intensa pesquisa para obtenção de combustíveis renováveis a partir de algas. O programa conhecido como *The Aquatic Species Program* (ASP) teve como objetivo principal a produção de biodiesel a partir algas com alto teor lipídico crescendo em tanques, utilizando CO₂ residual de termelétricas a base de carvão. Após quase duas décadas deste trabalho, muitos avanços foram feitos na ciência de manipulação do metabolismo de algas e na engenharia dos sistemas de produção de microalgas. O trabalho considerou três opções principais para produção de combustível: gás metano, etanol e biodiesel. A quarta opção é a direta combustão da biomassa de algas para produção de vapor ou eletricidade (SHEEHAN, 1998).

TABELA 2 - Alguns produtos obtidos a partir de microalgas Derner (2006).

Biomassa/Composto químico	Produto	Aplicações
Biomassa	Biomassa <i>in natura</i>	Suplemento alimentar Alimentos funcionais Aditivos alimentares Aqüicultura Condicionador do solo
Corantes e antioxidantes	Xantofilas (astaxantina e cantaxantina) Luteína Beta-caroteno Vitamina C e E	Aditivos alimentares Cosméticos
Ácidos graxos	Ácido araquidônico - ARA Ácido eicosapentaenóico - EPA Ácido docosahexaenóico - DHA Ácido gama-linolênico - GCA Ácido linoléico – LA	Aditivos alimentares
Enzimas	Superóxido dismutase – SOD Fosfoglicerato quinase – PGK Luciferase e Luciferina Enzimas de restrição	“Suplemento alimentar” Pesquisa Medicina
Polímero	Polissacarídeos Amido Ácido poli-beta-hidroxibutirico - PHB	Aditivos alimentares Cosméticos Medicina
Produtos especiais	Peptídeos Toxinas Isótopos Aminoácidos (prolina, arginina, ácido aspártico) Esteróis	Pesquisa Medicina

Os primeiros trabalhos no cenário comercial envolvendo a produção de microalgas datam da década de 60, onde espécies de *Chlorella* e *Spirulina* eram utilizadas para suplemento alimentar, *Dunaliella salina* para obtenção de β -caroteno, *Haematococcus pluvialis* para produção de astaxantina, entre outras (BERTOLDI et al., 2008).

Há trabalhos que relataram a ingestão de pequenas quantidades de biomassa microalgal (*Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*) pode afetar de forma positiva a fisiologia de animais, apresentando resposta imune não-específica e auxiliando o sistema imunológico (BELAY et al., 1993). Ainda no mesmo período as pesquisas com microalgas focavam o tratamento de águas residuais, sua aplicação em programas espaciais de renovação atmosférica e fonte de alimento (BENEMANN, 1990).

Diversos trabalhos tratam do processamento termoquímico da biomassa de algas, como gaseificação (ELLIOT & SEALOCK, 1999), liquefação (TSUKAHARA, & SAWAYAMA, 2005; SAWAYAMA et al., 1995), pirólise (MINOWA & SAWAYAMA, 1999; MIAO et al., 2004), hidrogenação (AMIN, 2009) e processamento bioquímico como a fermentação (BENTLY, et al., 2008) e transesterificação de ácidos graxos de microalgas (XU et al., 2003). A Figura 5 mostra um fluxograma para os processos de conversão da biomassa de microalgas.

Contudo, carece a maior exploração do potencial biotecnológico das microalgas, em processos de engenharia ambiental, visando a estabilização dos poluentes, com utilização paralela dos compostos formados.

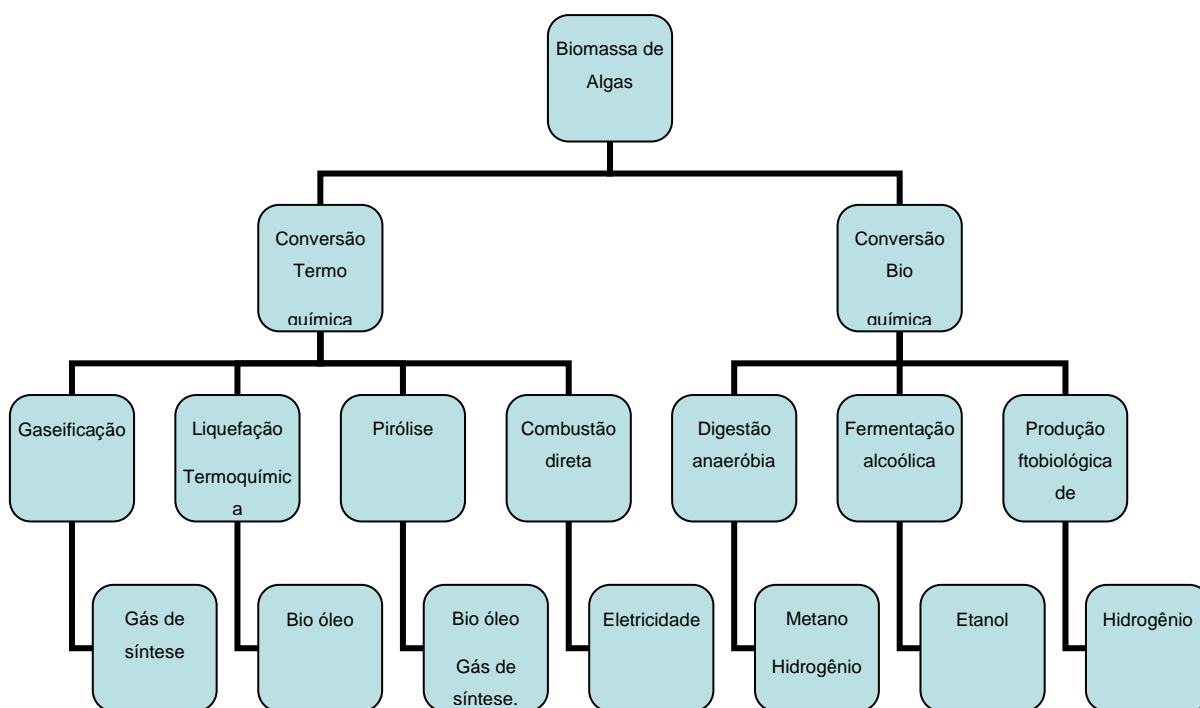


Figura 5: Fluxograma dos processos de conversão da biomassa de microalgas (Adaptado de TSUKAHARA, 2005).

3.6.1 Biodiesel de microalgas

A escolha da matéria-prima constitui um fator crítico no custo final do biodiesel, representa 50 a 85% do custo total do biodiesel. Portanto, para minimizar o custo do biodiesel, é importante fazer uma avaliação da matéria-prima em relação ao

rendimento, qualidade e aproveitamento dos subprodutos (SOARES, 2010; TEIXEIRA & MORALES, 2006; SONG et al., 2008).

Conforme Soares (2010) os óleos vegetais e as gorduras animais *in natura* têm índices de fluidez e viscosidade mais elevados do que o petrodiesel. Devido a estas características, estes óleos e gorduras *in natura* não são adequados para uso em motores de combustão do ciclo diesel convencionais, pois podem provocar entupimentos e problemas com baixa qualidade de ignição. Por isso, estas matérias-primas são transformadas em biodiesel. O biodiesel pode ser obtido por diferentes processos tais como o craqueamento, o hidrocraqueamento, a esterificação, e a transesterificação, sendo este último o mais conhecido e utilizado atualmente (PARENTE, 2003; CARTONI, 2009).

A transesterificação pode ocorrer através de diferentes processos, tais como a transesterificação ácida, alcalina, enzimática e em solvente supercrítico. A transesterificação consiste de uma reação reversível onde os triacilgliceróis do óleo ou gordura (vegetal ou animal) reagem com um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol) geralmente na presença de um catalisador, formando ésteres (metílicos ou etílicos) de ácidos graxos e deixando glicerina como coproduto. (CARTONI, 2009).

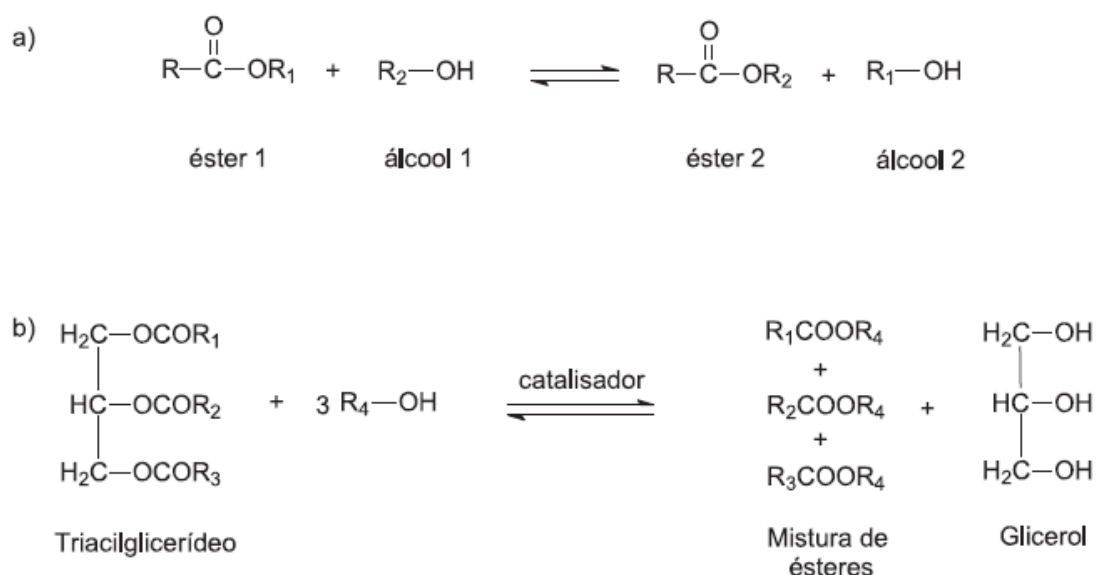


Figura 6: a) Equação geral para uma reação de transesterificação; b) equação geral da transesterificação de um triacilglicerídeo. Fonte: GERIS et al. 2007.

A produção de biodiesel através da transesterificação alcalina é a rota mais utilizada industrialmente, devido a razões econômicas, ao menor tempo de reação e aos melhores rendimentos obtidos comparados a transesterificação ácida. Em relação ao álcool, mundialmente, o metanol é mais utilizado do que o etanol, devido à sua maior disponibilidade, aos custos mais baixos e a maior conversão dos triacilgliceróis em biodiesel (KHALIL, 2006).

Conforme Chisti (2007), a substituição de todo o combustível derivado de petróleo utilizado pelo setor de transportes nos Estados Unidos da América (EUA) por biodiesel de oleaginosa requeria 0,53 bilhões de m³ de biodiesel anualmente, na razão de consumo de 2007. Para abastecer 50% do combustível utilizado pelo setor de transporte nos EUA utilizando o óleo de palma, que é derivado de uma planta com alto rendimento de óleo por hectare, seria necessário 24% do total da área agrícola disponível no país. Em contraste, se for usado óleo de microalgas, cultivado em fotobiorreatores, seria necessário apenas 1 a 3% do total da área de cultivo (SOARES, 2010).

Uma outra vantagem do cultivo de algas é o fato do mesmo não requerer aplicação de pesticidas. Além disso, após a extração do óleo há a possibilidade do aproveitamento de co-produtos como proteínas e biomassa usada como fertilizante (SPOLAORE et al., 2006), ou ser fermentada para produzir etanol ou metano (HIRANO et al., 1997). A composição bioquímica da biomassa de algas pode ser modulada por variações nas condições de crescimento, onde o teor de óleo pode ser aumentado significativamente (QIN, 2005).

Além disso, cabe lembrar que o cultivo de algas não concorre na ocupação de áreas agriculturáveis, com outros vegetais, o que as exclui de imediato da polêmica biocombustíveis *versus* Alimentos. É crescente o debate sobre a potencial produção de microalgas em conjunto com o tratamento de águas residuais, sendo para alguns especialistas a área com a mais plausível aplicação comercial a curto prazo (HARMELEN, 2006; BENEMANN, 1997).

O óleo de microalga difere da maioria dos óleos vegetais especialmente por ser levemente mais rico em ácidos graxos poliinsaturados, com 4 ou mais duplas ligações. Por exemplo o ácido eicosapentaenóico (EPA, C₂₀:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, C₂₂:6n-3) ocorrem comumente em óleos de microalga. Ácidos graxos e metil ésteres de ácidos graxos (FAME) com 4 e mais duplas ligações

são susceptíveis a oxidação durante estocagem e isto reduz sua aceitabilidade para uso no biodiesel (BELARBI et al., 2000).

Os triacilgliceróis das microalgas conhecidas apresentam composição em ácidos graxos (14 a 22 átomos de carbono) semelhante a dos óleos vegetais usados na produção de biodiesel (SOARES, 2010; METTING, 1986; SPOLAORE et al., 2006; SONG, et al., 2008; MATA et al., 2009).

3.6.2 Microalgas e Mecanismos de Desenvolvimento Limpo

Para reduzir a concentração de dióxido de carbono atmosférico existem duas possibilidades: a redução das emissões ou a absorção do dióxido de carbono produzido em excesso, também denominado de seqüestro de carbono (BORGES et al., 2007). Algumas medidas para a redução dos níveis atuais de CO₂ na atmosfera foram propostas no Tratado de Kyoto em 1997, que estabelece que os países desenvolvidos terão a obrigação de reduzir em média 5% a emissão de gases que aumentam o “efeito estufa” até 2012, considerados os índices de 1990.

Como mecanismo de seqüestro de carbono (“Mecanismo de Desenvolvimento Limpo – MDL”), está sendo proposto o plantio de árvores (florestamento/reflorestamento), que possuem a capacidade de incorporar o dióxido de carbono à biomassa vegetal através do processo da fotossíntese (Araújo 2000). Entretanto, ao se lavrar o solo para o plantio, grande quantidade de CO₂ é liberada para a atmosfera o que anularia o efeito benéfico da absorção de dióxido de carbono e sua incorporação na biomassa das plantas ao longo de sua vida. A utilização de outros organismos fotossintéticos com capacidade de absorver CO₂ da atmosfera poderia ser uma alternativa ao reflorestamento. (BORGES, et al., 2007).

As microalgas são as principais responsáveis pela absorção biológica do CO₂ atmosférico nos oceanos que cobrem 3/4 partes da superfície do globo terrestre, uma vez que estão presentes em grande número na coluna de água (FALKOWSKI & RAVEN, 1997). Uma parte do CO₂ absorvido pelas microalgas é transferida para o fundo oceânico num processo conhecido como "bomba biológica" (LALLI & PARSONS, 1993). Este processo, juntamente com a difusão direta do CO₂ para a água, impede que o acúmulo de gases do "efeito estufa" seja ainda maior.

No que tange à qualidade do ar, a produção de biomassa de algas pode fixar CO₂ residual (1,0 kg de biomassa seca de algas utiliza cerca de 1,83 kg de CO₂). Sobretudo a assimilação do gás carbônico pelas microalgas se dá a partir basicamente de três fontes distintas: CO₂ atmosférico; CO₂ de descarga de gases industriais e CO₂ de carbonatos solúveis (BRENAN & OWENDE, 2009; WANG et al., 2008).

Sob condições naturais de crescimento, as microalgas assimilam o CO₂ do ar (cerca de 360 ppmv CO₂). A maioria das microalgas pode tolerar e utilizar substancialmente níveis elevados de CO₂, tipicamente acima de 150 000 ppmv (BILANOVIC et al., 2009; CHIU et al., 2009; VUNJAK et al., 2005). Então, em unidades comuns de produção, o CO₂ é introduzido no cultivo de uma ou outra forma de fontes externas como exaustão de indústrias (HIRANO et al., 1998; HSUEH et al., 2007; BROWN, 1996; DOUCHA et al., 2005) ou como carbonatos solúveis (Na₂CO₃) (EMMA et al., 2000; COLMAN, 1995).

Isto qualifica o cultivo de microalgas, para este fim, como um Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), ou seja, alternativas tecnológicas para o desenvolvimento de fontes de energia “limpas”, que reduzam os níveis do dióxido de carbono e de outros gases da atmosfera (BORGES et al., 2007).

Há também a possibilidade do uso de microalgas (diatomáceas) em painéis solares. Espécies que suportam altas temperaturas durante seu desenvolvimento podem ser confinadas em estruturas idênticas a painéis solares, e por meio de manipulação biotecnológica é possível extrair o óleo das células sem o comprometimento da cultura “fixada” nos painéis. Estão em andamento trabalhos considerando o arranjo das células (frústulas) em painéis de forma fixa, e devido à geometria natural das frústulas a incidência e aproveitamento da luz pode ser otimizado. Isso possibilita maior produtividade e obtenção de óleo com menor necessidade de luz (RAMACHANDRA, et al., 2009).

Ainda, conforme os mesmos autores, estes princípios partem da observação da biologia das folhas das plantas vasculares, onde é considerada a possibilidade de um cultivo em painéis idênticos à estrutura de uma folha vegetal, que permite a troca de gases com o meio externo, controle da temperatura e melhor aproveitamento da luz solar. Isto possibilitaria a otimização do uso de dióxido de carbono e redução da quantidade de água no meio de cultivo.

3.7 Sobre a biologia de *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt.

O gênero *Desmodesmus* (anteriormente conhecido como *Scenedesmus*) tem sido estudado e investigado há quase 200 anos. As primeiras observações microscópicas de coleções datam de 1828. Meyen descreveu o gênero *Scenedesmus* no qual incluiu formas coloniais com e sem “espinhos” (ornamentação da célula vegetativa), em 1829. Em 1999, com o uso de análises moleculares, foi demonstrado que as formas com e sem espinhos pertenciam a gêneros distintos. A partir daí as formas “espinhosas” são agora denominadas *Desmodesmus* (Friedl et Hegewald) e as formas destituídas de espinhos guardam o nome original *Scenedesmus* sp. A classificação da espécie utilizada neste trabalho, segue a ordem abaixo, conforme o banco de dados mundial *Algaebase*, disponível em <http://www.algaebase.org/about/>:

- Império: Eukaryota
- Reino: Plantae
- Sub Reino: Viridiaeplantae
- Filo: Chlorophyta
- Classe: Chlorophyceae
- Ordem: Sphaeropleales
- Família: Scenedesmaceae
- Sub Família: Desmodesmoideae
- Gênero: *Desmodesmus*
- Espécie: *Desmodesmus subspicatus*.

Quanto à morfologia, o gênero *Desmodesmus* é caracterizado por agrupamentos achatados de células em linha reta ou curvadas, geralmente com 2,4 ou 8 células, mais raramente com 16 ou 32 células ovóides ou elipsóides juntas

paralelamente formando o chamado cenóbio, de vida livre. Nos extremos do cenóbio há longos espinhos. (NATURAL HISTORY MUSEUM, 2011).

A parede celular pode ser ornamentada com pequenas verrugas, reticulada ou apresentar uma crista mediana evidente. A maioria das espécies apresenta espinhos nos pólos das células internas. Cada célula é uninucleada e contém um cloroplasto parietal com um pirenóide. As células interiores ou médias muitas vezes apresentam um simples espinho apical, considerando que as células marginais ou terminais muitas vezes apresentam um único grande espinho em cada ápice, e estes são diagonais ao longo do eixo da colônia (cenóbio). A reprodução assexuada dá-se pela formação de autocolônias, as quais são liberadas pela ruptura da parede da célula-mãe. Reprodução sexuada não observada (FRANCESCHINI et al. 2010).

A Figura 7 mostra células inteiras de *Desmodesmus subspicatus* em microscopia óptica, em vida livre. O gênero inclui mais de 100 espécies distribuídas pelo mundo inteiro. Vivem no fitoplâncton de água doce, ocorrendo em ambientes lênticos e lóticos; desenvolvem-se de bem em águas de diferentes trofismos, sendo mais comuns em meios eutróficos (FRANCESCHINI et al. 2010). A temperatura ideal para o desenvolvimento da espécie encontra-se entre 23 e 27°C (ABNT-NBR-12648, 2005).



Figura 7: Células inteiras de *Desmodesmus subspicatus* (R.Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt. Fonte: Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic (2011).

Os indivíduos do gênero *Desmodesmus* podem mudar sua forma em resposta às mudanças nas condições ambientais, a chamada plasticidade fenotípica. A metamorfose mais proeminente é a colônia, no entanto, ele também pode produzir uma metamorfose unicelular. Esta alteração morfológica pode ser "provocada" por um aumento na concentração de nitrogênio ou fósforo. Esse fenômeno tem sido observado a campo e em laboratório. Não há estruturas de locomoção. É uma espécie cosmopolita na distribuição e constitui um indicador útil de condições bio-nutrientes em lagos. Serve também como organismo modelo para investigar questões fisiológicas, ecológicas ou evolutivas. (NATURAL HISTORY MUSEUM, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Área de origem do efluente de estudo

O efluente utilizado neste trabalho foi coletado na Estação de Tratamento de Esgoto da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC (ETE – UNISC), no Município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil (Figura 7). A ETE – UNISC encontra-se localizada no campus Santa Cruz, ao lado direito na entrada principal do campus universitário, município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. A área total do campus compreende 414.667 m², tendo uma área construída de 51.614 m². As figuras 8 e 9 mostram uma vista geral da área construída da universidade e da ETE-UNISC. A Figura 10 apresenta um fluxograma resumido das etapas deste trabalho, constituído de três momentos complementares.

4.2 Material Biológico

A cepa utilizada foi a *D. subspicatus* proveniente do Laboratório de Ecotoxicologia da UNISC, mantida em germinador, sob iluminação contínua de 5000 lux, em 25°C com meio de cultivo Chu₁₂ com a seguinte composição: 30 mg L⁻¹ de Ca(NO₃)₂; 75 mg L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O; 20 mg L⁻¹ Na₂CO₃; 5mg L⁻¹ K₂HPO₄; 5 mg L⁻¹ KCl; 0,5 mg L⁻¹ FeCl₃.6H₂O; 1,0 ml L⁻¹ EDTA.

Posteriormente a cepa foi aclimatada ao meio N:P:K (18:6:18) 3g L⁻¹ e iniciado o repique para a manutenção das culturas. As microalgas foram cultivadas em Erlenmeyers de 500 mL previamente esterilizadas com uma solução de hipoclorito de sódio, 4 mL L⁻¹, após 24 horas foi adicionado 0,5 mL de tiosulfato de sódio, 250 g L⁻¹, que agiu como quelante do hipoclorito por duas horas; em seguida a solução foi descartada. O inóculo foi aclimatado em Erlenmeyer perfazendo um volume de 400mL de cultivo de *D subspicatus*. Os repiques foram homogeneizados por aeração, vedados com buchas de algodão e gaze e mantidos sob iluminação artificial sem fotoperíodo. Estes repiques foram utilizados nos testes nos fotobiorreatores como inóculo.



Figura 9: Vista geral da área construída da UNISC, a seta indica o local da ETE-UNISC (Google Earth, 2011).



Figura 10: Vista geral da ETE-UNISC, no canto inferior direito o detalhe para a caixa de inspeção, de onde foram retiradas as amostras de efluente.

4.3 Fotobiorreator tubular de coluna de bolhas

As seções a seguir (4.3.1 a 4.3.2) apresentam a metodologia referente a construção do fotobiorreator tubular para cultivo de *D. subspicatus* em efluente e fixação de CO₂, relatando a evolução do trabalho no sentido da concepção do fotobiorreator para aumento de escala.

4.3.1 Elaboração do fotobiorreator experimental em bancada (I)

Inicialmente foi elaborado um fotobiorreator experimental de bancada. Isto para dar início ao estudo pioneiro do cultivo de *D. subspicatus* em fotobiorreator tubular na UNISC. O fotobiorreator foi composto por de 2 tubos de acrílico com 50 mm de altura, 100 mm de diâmetro, 5,0 mm de espessura da parede e um volume de trabalho de 2,5 L por tubo, dispostos paralelamente. O ar foi disperso no sistema utilizando um difusor (do tipo “pedra porosa”) localizado na base do centro do tubo, conectado por mangueira de silicone a um compressor de ar diafragmático com vazão de 0,51 vvm de ar. O fotobiorreator permaneceu sob iluminação artificial 24 horas, com uma lâmpada de 20W por tubo (1250 lux, medido por luxímetro digital calibrado).

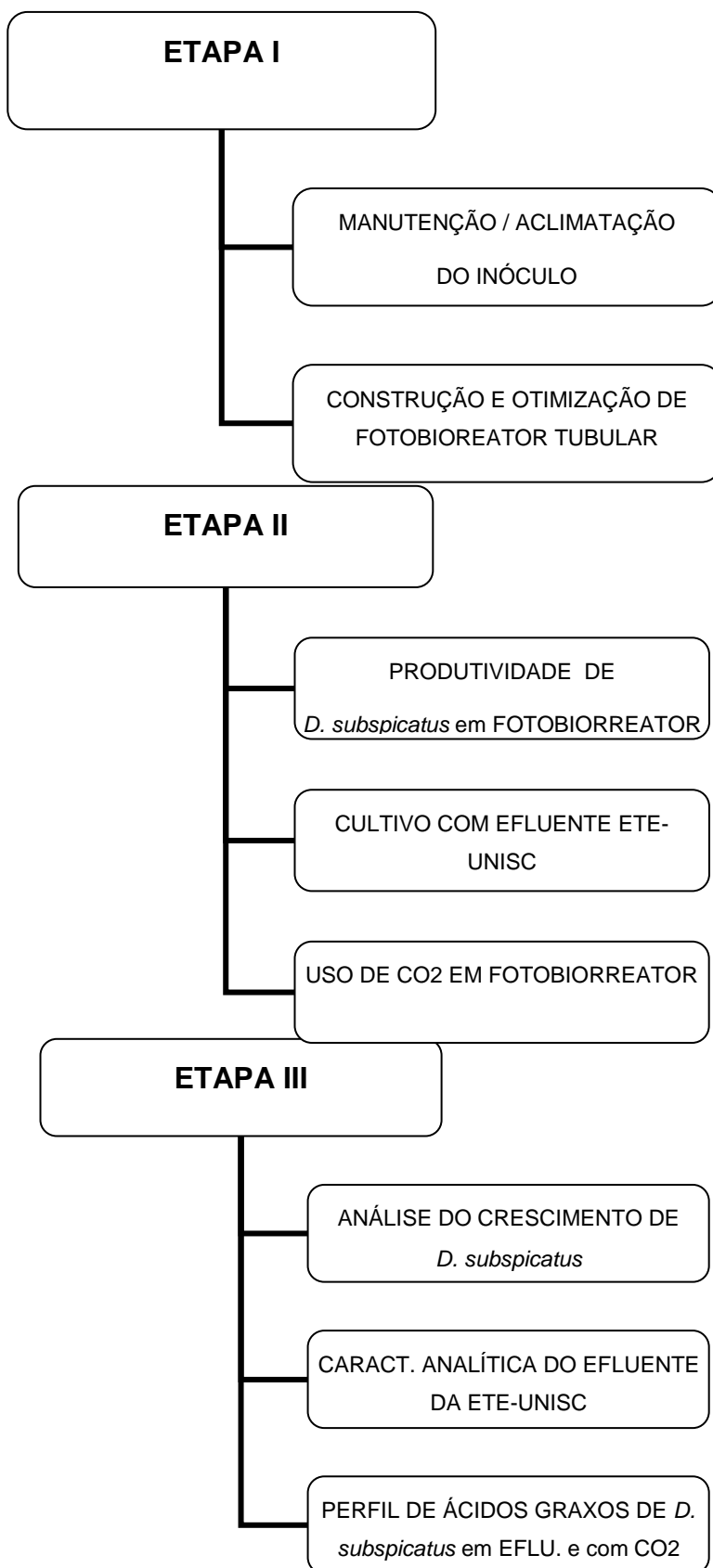


Figura 11: Fluxograma resumido das etapas do trabalho.

4.3.2 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (II)

Foi confeccionado um segundo fotobiorreator experimental de bancada contendo um único tubo de acrílico de 1 metro de altura e 100mm de diâmetro com um volume útil de 5,75 litros. O ar disperso no sistema foi proveniente de compressor de ar diafragmático, com vazão de 0,22 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto). No centro do tubo foi instalado um difusor, conectado por mangueira ao compressor de ar para dispersão de microbolhas de ar no sistema. O fotobiorreator permaneceu sob iluminação artificial 24 horas, com duas lâmpadas de 32 W por tubo (6330 lux, medido por luxímetro digital calibrado).

4.3.3 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (III)

A partir do cultivo bem sucedido no fotobiorreator anterior, foi elaborado um terceiro sistema de fotobiorreator experimental em bancada, composto por três tubos de acrílico de 1 metro de altura e 100 mm de diâmetro com um volume útil de 5,75 L por tubo, sob as mesmas condições hidrodinâmicas do anterior. Não houve mistura de líquidos e gases entre os tubos. O fotobiorreator permaneceu sob iluminação artificial 24 horas, com duas lâmpadas de 32W por tubo (6330 lux).

4.3.4 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (IV)

Um quarto fotobiorreator foi elaborado, desta vez para obtenção de um processo semi-contínuo para injeção de gases, com adição de CO₂ proveniente de cilindro, visando avaliar a fixação de CO₂ por *D. subspicatus*. Os tubos foram interligados por mangueiras plásticas, para circulação do volume por todos os tubos. Após o terceiro tubo foi construído um reservatório para aumento do volume de trabalho para 30 litros. No reservatório foi utilizado bombeamento submerso para recirculação do volume e envio deste para os tubos.

O reservatório também foi dotado de um sistema de recirculação, onde parte da vazão da bomba submersa era recirculada no reservatório, buscando diminuição da deposição de células no reservatório (autosombreamento da cultura), que não foi dotado de iluminação, embora permaneceu ao lado das lâmpadas do sistema de tubo, recebendo iluminação, porém reduzida.

O ar (ambiente) foi disperso no sistema por compressor diafragmático, com vazão de 0,22 vvm, conectado por mangueira até um difusor localizado no centro do primeiro tubo. Os tubos foram dotados de um sistema de recirculação de gases, no qual a saída do gás do primeiro tubo foi conectada a um compressor diafragmático e este, vedado para não sofrer interferência de gases externos, enviou a mistura de gases contendo o volume de CO₂ não assimilado e o oxigênio resultante do processo fotossintético do primeiro tubo para o difusor de gases na base do segundo tubo. Este mesmo princípio foi utilizado entre o segundo e o terceiro tubo.

A saída de gases do terceiro tubo foi conectada a um Erlenmeyer contendo uma solução de NaOH para fixação do CO₂ não fixado pela cultura por borbulhamento. Essa medida de recirculação de gases buscou promover a troca de gases do sistema, fator fundamental para o sucesso da atividade, bem como forçar ao máximo a passagem do CO₂ pelo sistema, promovendo maior contato com as microalgas. O fotobiorreator recebeu iluminação artificial de oito lâmpadas de 32W totalizando 42,3Klux por tubo.

O desenvolvimento da cultura de *D. subspicatus* foi avaliado em meio N:P:K (18:6:18) 3g L⁻¹, contendo o inóculo adicionado ao efluente da Estação de Tratamento de Esgoto da UNISC, autoclavado por 20 minutos a temperatura de 121°C para eliminação de patógenos, células de outras algas e rotíferos presentes no efluente naturalmente, visando manutenção de uma cultura monoespecífica de *D. subspicatus* no sistema.

Contudo no momento da inoculação o efluente utilizado ficou por alguns instantes exposto ao meio, passível de contaminação por outros microorganismos que posteriormente podem ter contribuído para o aumento da Demanda Bioquímica de Oxigênio das amostras. Não foram realizadas identificações microbiológicas dos demais microorganismos possivelmente presentes no efluente.

A alimentação do CO₂ do meio foi de 6,2% em relação à vazão de gás do meio (0,22 vvm), introduzida no sistema através de fluxômetro para controle de vazão do gás. Foi utilizada uma válvula solenóide para controle da injeção de CO₂ no sistema, sendo que esta não foi contínua e sim intercalada em períodos de 3 min. a cada duas horas.

4.4 Análise do crescimento de *D. subspicatus*

O crescimento de *D. subspicatus* foi registrado pelo incremento diário da densidade celular através da elaboração das curvas de crescimento, avaliando-se a Densidade Celular Máxima (DCM), o Tempo de Cultivo (TEMPO) e a Velocidade de Crescimento (k), a partir de alíquotas retiradas em triplicata do Fotobiorreator diariamente.

O cultivo foi iniciado com uma densidade celular $4,75 \times 10^6$ células mL⁻¹. A cada 24 horas após o início dos cultivos foram retiradas amostras das culturas para determinação da densidade celular. As contagens foram realizadas em microscópio óptico com auxílio de Câmara de Neubauer e contador de células manual (Figura 12), sendo que, o número de células corresponde à média de três contagens (TAVARES & ROCHA, 2003).

4.4.1 Curvas de crescimento

As curvas de crescimento foram elaboradas com a densidade celular diária da média das alíquotas em triplicata, sendo que foram coletadas uma alíquota em cada tubo e uma alíquota no reservatório. Portanto cada valor médio final de densidade celular é resultado de 12 observações/dia (3 alíquotas x 4 pontos de coleta) . Com uso do software Excel, foram confeccionadas as curvas de crescimento com seus respectivos desvios padrão.

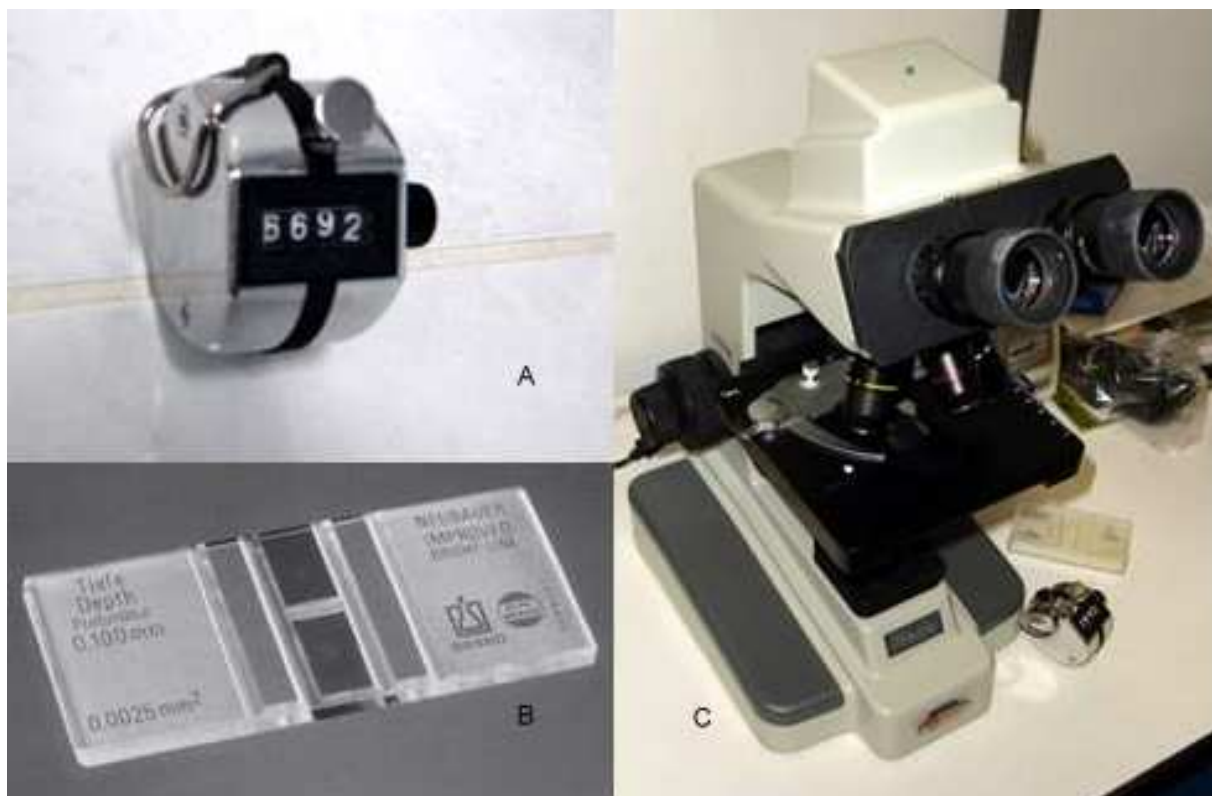


Figura 12: Instrumentos utilizados para as contagens: Contador manual (A); Câmara de Neubauer (B); Microscópio óptico (C).

4.4.2 Velocidade de crescimento (k)

A velocidade de crescimento, a qual representa o número de divisões celulares da população por unidade de tempo (dia), foi determinada através da equação 01, citada em Stein (1973):

$$k = \frac{3,322}{T_2 - T_1} \text{Log} \frac{N_2}{N_1} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

k = velocidade de crescimento.

3,322 = fator de conversão do logaritmo base 2 a base 10.

(T₂ - T₁) = intervalo de tempo em dias.

N₁ = densidade celular inicial.

N₂ = densidade celular final.

Log = logaritmo em base 10.

A velocidade de crescimento representa o número de divisões celulares por unidade de tempo (dias) e é específica de cada unidade experimental (DERNER, 2006). A velocidade de crescimento foi determinada considerando o dia de cultivo no qual a população alcançou a densidade celular máxima.

4.4.3 Tempo de cultivo (T)

Este parâmetro foi determinado pelo número de dias transcorridos entre o início do cultivo até o dia em que foi alcançada a densidade celular máxima.

4.4.4 Densidade celular máxima (DCM)

Este parâmetro foi definido como o máximo valor obtido em número de células por mililitro, antes de a cultura alcançar a fase estacionária da curva de crescimento, independentemente do tempo transcorrido desde o início do cultivo.

4.5 Caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC

Todas as análises físico-químicas do efluente deste trabalho foram realizadas na Central Analítica da Universidade de Santa Cruz do Sul, cadastrada na Fundação Estadual de Proteção Ambiental FEPAM-RS como Laboratório de Análises Ambientais sob o certificado nº 17/2009-DL. Os parâmetros da qualidade da água avaliados foram:

- Alcalinidade (bicarbonatos)
- Alcalinidade (carbonatos)
- Alcalinidade hidróxidos
- Alcalinidade total
- DBO₅
- DQO
- Fósforo total

- Nitrogênio amoniacal
- Nitrogênio total Kjeldahl

A metodologia para a realização das análises foi seguida de acordo com Standard Methods (2005) conforme a Tabela 3 a seguir:

TABELA 3 - Relação dos parâmetros avaliados para a caracterização analítica do efluente e nome dos respectivos procedimentos adotados para suas determinações.

Alcalinidade (carbonatos, bicarbonatos e total)	Titrimetria
Demanda Bioquímica de oxigênio (DBO₅)	Incubação a 20 °C por 5 dias
Demanda Química de oxigênio (DQO)	Refluxo aberto com dicromato de potássio/titrimetria
Fósforo total	Colorimetria, método do ácido ascórbico
Nitrogênio amoniacal	Destilação/titrimetria
Nitrogênio total	Método Kjeldahl (digestão/destilação/titrimetria)

A temperatura foi monitorada diariamente por termômetro de mercúrio, no instante da retirada das alíquotas. O pH foi monitorado por pHmetro, cujo eletrodo foi submerso no volume do reservatório do fotobiorreator, do início ao final do período experimental, sendo as observações do valor de pH tomadas a cada 24h.

Estes parâmetros foram escolhidos pelo interesse na avaliação do sistema quanto à remoção da carga de nitrogênio, fósforo e matéria orgânica presente no efluente. As amostras finais análise de efluente passaram primeiramente pelo processo de floculação com hidróxido de sódio e em seguida, após separação da biomassa, o sobrenadante foi neutralizado, só então as amostras foram encaminhadas à Central Analítica da UNISC.

4.6 Análise da biomassa de *D. subspicatus*

A biomassa de *D. subspicatus* foi separada do meio de cultivo mediante floculação. Após a separação e secagem a biomassa foi submetida à liofilização e enfim a extração dos lipídios e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas.

A recuperação da biomassa foi obtida por floculação com solução de NaOH 6 mol L⁻¹, com 5 mL por litro de cultivo. A biomassa foi decantada em um recipiente

plástico, o sobrenadante foi retirado para amostras do efluente e a biomassa transferida para a secagem.

A secagem da biomassa foi feita em estufa, à 100°C. Em seguida, a biomassa foi transferida para um liofilizador, sendo submetida à temperatura de -40°C sob vácuo, durante 6 horas. Após o processo de liofilização a biomassa seca foi pesada em balança de precisão, para obtenção do peso seco da biomassa por gravimetria.

A biomassa seca foi ser referenciada como rendimento ou produtividade da cultura, neste trabalho foi expresso em miligramas de biomassa seca (liofilizada) por litro de cultura (produtividade volumétrica) (DERNER, 2006).

4.7 Fração lipídica de *D.subspicatus*

A extração dos lipídios seguia a metodologia de Bligh & Dyer (1959), adaptada por Soares (2010). Foram pesados 1,0g de amostra de microalga liofilizada em tubos de ensaio de 12 mL. Em seguida, adicionou-se 3 mL de um mistura de CHCl₃/CH₃OH (2:1 v/v) e 10 µL de uma solução de butil hidróxi tolueno (BHT). A seguir, as amostras foram submetidas à ultrassom em um sonicador (USC 700, freqüência 55 Hz) em banho de gelo por 3 ciclos de 15 min cada. Posteriormente ao ultrassom, as amostras foram incubadas por 24 h a 4 °C e protegidas da luz (embrulhadas com papel alumínio para prevenir a fotooxidação das amostras) para posterior extração dos lipídeos.

A seguir, as mesmas foram novamente submetidas por 3 ciclos de 15 minutos cada e centrifugadas por 10 minutos sendo que o sobrenadante foi recuperado com uma pipeta Pasteur e transferido a outro tubo reservado. Foram adicionados 2 mL de água destilada e 1 mL de clorofórmio ao tubo reservado.

As amostras foram mais uma vez centrifugadas; a fase inferior (clorofórmio:lipídeo) foi recuperada, com uma pipeta de Pasteur, e transferida para um frasco de vidro pré-pesado. A fase aquosa foi lavada com 1 mL de clorofórmio e centrifugada novamente por 10 min. Então, a fase inferior foi recuperada e transferida para o frasco de vidro seco e pré-pesado. A fração lipídica foi pesada e a quantidade de lipídeos totais foi determinada em % (L_B) de biomassa seca (teor de óleo) e em miligramas de lipídeo por litro de cultura microalgal (L_C) de acordo com as equações:

$$L_B = \frac{(F_2 - F_1) \cdot 100}{m} \quad \text{Eq. 2}$$

$$L_C = \frac{L_B \cdot B_L}{100} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:

L_B = lipídios totais (em % de biomassa liofilizada);

L_C = lipídios totais (em mg por litro de cultura microalgal);

F_1 = massa do frasco vazio (mg) ;

F_2 = massa do frasco + lipídeos totais (mg);

m = massa da amostra de biomassa liofilizada (mg);

B_L = quantidade de biomassa seca (liofilizada) por litro de cultura microalgal (mg L^{-1}).

O método de derivatização foi realizado para transformar os lipídios resultantes em um derivado com características adequadas para serem analisados por cromatografia gasosa (CHRISTIE, 1992). Para a realização desta técnica foram utilizados 0,1g do óleo em um balão de fundo redondo de 125 mL. Neste, foi adicionado uma solução metanólica (hidróxido de sódio e metanol na proporção de 1:50).

A solução foi aquecida a uma temperatura de aproximadamente 60°C em refluxo durante 20 minutos. Quando não foi mais possível a observação de gotas de óleo no balão, foram adicionados 7 mL de uma solução de trifluoreto de boro-metanol ($\text{BF}_3/\text{metanol}$), gota a gota, através do condensador e deixado em refluxo por mais 4 minutos. A seguir foi adicionado via condensador foram acrescentados 05 mL de heptano e deixado em refluxo por mais 2 minutos.

Após alcançar a temperatura ambiente, foi adicionado uma solução saturada de NaCl. O balão foi levemente agitado. A fase superior da amostra foi coletada em um tubo de ensaio e no mesmo, foi adicionada uma ponta de espátula de sulfato de sódio anidro, o qual foi previamente ativado na estufa à 100°C durante uma hora. O extrato foi dissolvido com heptano e encaminhado para análise cromatográfica.

Para as análises foi utilizado um equipamento Shimadzu QP 2010 Plus equipado com Injetor Automático AOC 20i. As amostras derivatizadas foram

analisadas por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) com método AOCS (Ce 1c-89), modificado por AOCS (2008). As condições de aquecimento da coluna DB5 ms (30m x 0,25 mm x 0,25 μ m) foram 150°C (0,1min) aquecendo até 250°C (3°C min⁻¹), continuando o aquecimento a 30°C min⁻¹ até 300°C; no detector de massas a temperatura da fonte de ionização e a temperatura de interface foram de 280°C. O sistema de injeção foi utilizado no modo *split* (1: 5) a 250°C e o detector de massas foi mantido no modo *scan*. Os padrões de ésteres metílicos foram adquiridos da SIGMA e utilizados visando a identificação dos ácidos graxos presentes nas amostras. Foram injetadas em triplicata alíquotas de 1 μ L da mistura de padrões e da amostra para identificação dos ésteres metílicos presentes.

4.8 Delineamento experimental e análise dos dados

Os dados considerados neste trabalho são referentes à última versão do fotobiorreator, o modelo IV, visto que as versões anteriores serviram para verificação do crescimento de *D. subspicatus* nas condições propostas, buscando-se sempre aumentar o volume de trabalho do cultivo e otimizar o sistema. Desta forma, o fotobiorreator constituiu a unidade experimental, tendo sido realizados experimentos em duplicata com o efluente da ETE-UNISC; com e sem adição de CO₂, para a elaboração das curvas de crescimento da espécie teste.

No processamento da informação, empregou-se a estatística descritiva (média \pm desvio-padrão; coeficiente de variação) para a caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes da inoculação de *D. subspicatus* no fotobiorreator, bem como histogramas para a visualização das tendências das proporções relativas das áreas de picos amostrais do óleo extraído da espécie teste (CALLEGARI-JACQUES, 2003). Os cálculos foram realizados utilizando os *softwares* MS EXCEL 7.0 e ORIGIN 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de *Desmodesmus subspicatus*, foram mantidas em fase exponencial de crescimento para testes exploratórios em maiores volumes. A Figura 13 mostra a bancada elaborada para manutenção das culturas de *D. subspicatus*.



Figura 13: Estrutura para manutenção das culturas de *D. subspicatus*.

Cabe ressaltar aqui que os resultados referentes aos fotobiorreatores experimentais de bancada, do I ao III apresentam apenas o resultado final da construção e um breve cultivo para constatação da adaptação das culturas de *D. subspicatus* às condições impostas.

Não foi o objetivo avaliar todos os parâmetros citados na metodologia nessas versões, por ordem de custos, tempo e escopo do trabalho, qual seja, o desenvolvimento de um fotobiorreator com fluxo semicontínuo de gases com volume aproximado de trabalho de 30 litros por cultivo, recirculação do volume líquido e aporte de CO₂ suplementar para fixação na biomassa resultante. Apenas mostrar a evolução das atividades no período.

5.1 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (I)

O fotobiorreator inicial consistiu de 2 tubos de acrílico dispostos paralelamente. O regime de cultivo foi em batelada, não havendo mistura entre os volumes de líquido

e gases. Na figura 14 pode ser visualizado o fotobiorreator experimental de bancada (I) em operação, foi avaliado a densidade celular durante o período 8 dias realizando a contagem em Câmara de Neubauer diariamente.

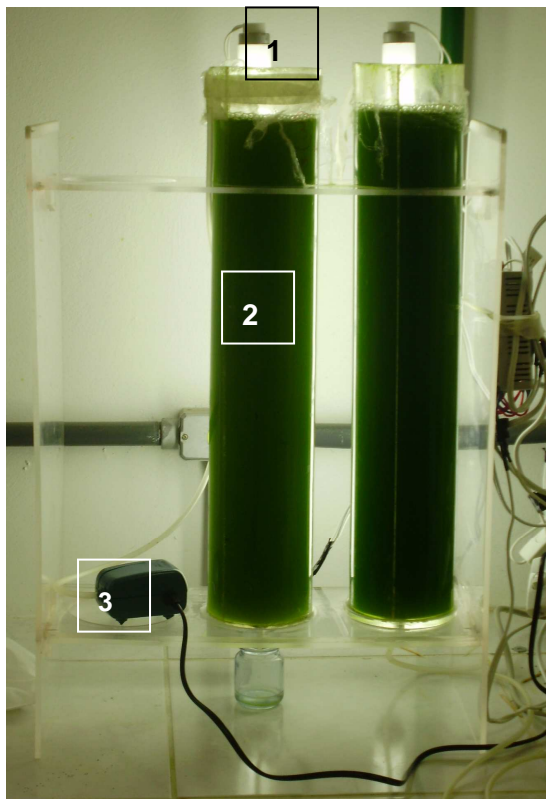


Figura 14: Fotobiorreator experimental de bancada (I). A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpada fluorescente de 20 W; (2) Tubos de acrílico de 50mm com a cultura e (3) bomba de ar diafragmática.

A Figura 15 mostra o gráfico para a densidade celular do cultivo nos dois tubos. Foi possível observar o crescimento de *D. subspicatus* no fotobiorreator a partir das condições operacionais testadas. Não pode ser distinta uma fase Lag de adaptação, sendo que o crescimento iniciou diretamente à fase exponencial, atingindo a densidade celular máxima, para ambos os tubos 01 e 02, no sexto dia, os valores de $41,3 \times 10^6$ e $24,8 \times 10^6$ células mL⁻¹ respectivamente.

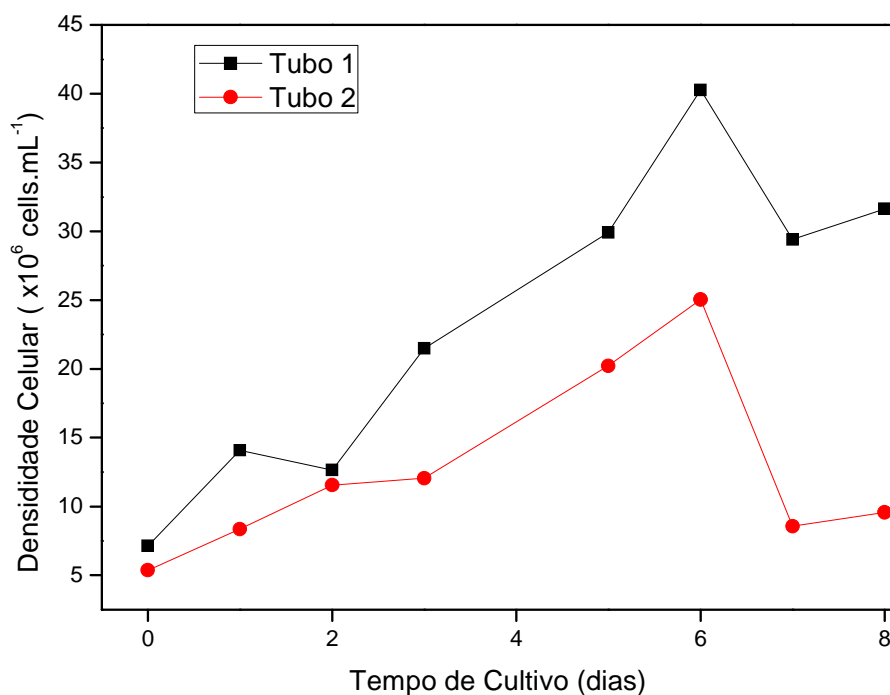


Figura 15: Gráfico para as curvas de densidade nos dois tubos do primeiro fotobiorreator confeccionado no trabalho.

Segundo UGWU, et al (2007), inúmeros fotobiorreatores podem ser utilizados para a produção de microalgas, porém, devem-se desenvolver protótipos que sejam adequados para o crescimento microalgal no intuito de obter uma quantidade relativamente satisfatória de biomassa. Para isso, é de fundamental importância a homogeneidade na distribuição da luz (em intensidade adequada para não provocar fotoinibição); o regime hidrodinâmico que evite a deposição de material biológico em “zonas mortas”, mas que ao mesmo tempo não provoque estresse da cultura por excesso de agitação; troca de gases eficientes para liberar o oxigênio formado na fotossíntese especialmente, evitando a auto-intoxicação da cultura e possível formação de peróxido de hidrogênio caso a quantidade de luz seja excessiva (RICHMOND, 2004).

5.2 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (II)

Foi elaborado um fotobiorreator de bancada em acrílico para testes de cultivo e difusão de gases no meio, para avaliar a homogeneidade do cultivo de *D. subspicatus* inoculado. Desta vez o fotobiorreator foi constituído de apenas 01 tubo de acrílico,

com as mesmas dimensões anteriores de diâmetro e espessura da parede, porém com 1,0 m de altura. Foi implantada uma torneira (do tipo de barrica) próximo à base do tubo, para a tomada de amostras e escoamento do volume total.

Neste fotobiorreator foi buscado avaliar uma possível influência do aumento da coluna d'água e o uso de lâmpadas fluorescentes com potência maior, de 32watts, visando a economia energética. A cultura se desenvolveu normalmente mediante acompanhamento do aumento da densidade celular ao longo de sete dias. A Figura 16 mostra o segundo fotobiorreator desenvolvido.

5.3 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (III)

O terceiro fotobiorreator experimental apresentou modificações significativas na construção. O volume total de trabalho (soma dos três tubos) foi de 16 litros. Cada tubo recebeu aporte de luz de ambos os lados por duas lâmpadas de 32 watts e na base dos tubos foram acopladas torneiras pra drenagem e manutenção.

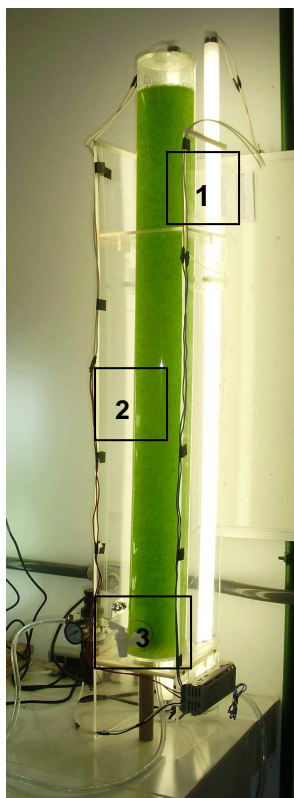


Figura 16: Fotobiorreator experimental de bancada (II). A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpada fluorescentes de 32W; (2) Tubo de acrílico com 1,0m de altura e (3) torneira.

Os tubos e as lâmpadas forma fixadas a uma estrutura de madeira para sustentação do sistema. A fiação elétrica foi totalmente protegida por tubulação anti-chama e todos os reatores das lâmpadas foram agrupados em uma caixa elétrica fixada à lateral direita da estrutura de suporte. A caixa elétrica recebeu um *cooler* exaustor para evitar o superaquecimento do plástico e possível derretimento provocado pelo excesso de calor dos reatores agrupados (Figura 17).

Na parte traseira da estrutura, próximo a base, foram acoplados compressores diafragmáticos para promover a injeção dos gases por mangueiras pneumáticas. A Figura 18 ilustra o 3º modelo de fotobiorreator desenvolvido.

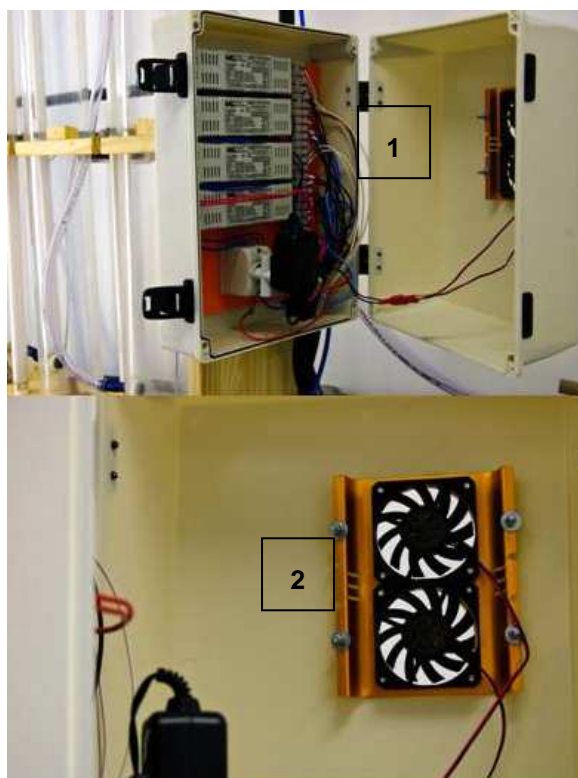


Figura 17: Caixa elétrica dos reatores (1) e detalhe do *cooler* de resfriamento (2).

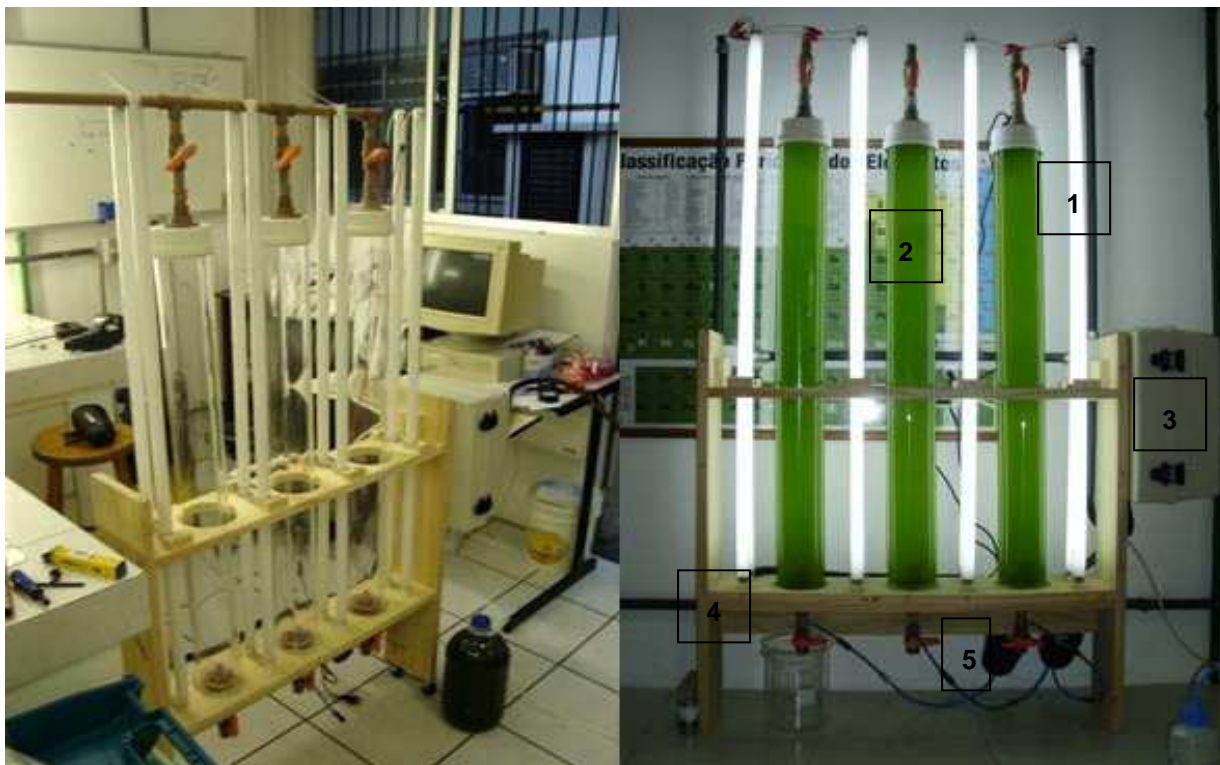


Figura 18: Terceiro fotobiorreator tubular de coluna de bolhas desenvolvido ao longo do trabalho. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) lâmpadas fluorescentes de 32W; (2) tubo de acrílico de 1,0m de altura; (3) caixa elétrica; (4) estrutura de madeira para suporte; (5) bomba de ar diafragmática.

A figura 19 apresenta a curva de crescimento de *D. subspicatus* obtida a partir do terceiro modelo de fotobiorreator desenvolvido. O cultivo foi realizado com N:P:K (18:6:18) $3,0 \text{ g L}^{-1}$ durante 14 dias.

O comportamento da espécie nas condições testadas apresentou pequena variação da densidade celular no período inicial de cultivo do tempo zero ao tempo dois (0 a 2 dias), repetindo o comportamento observado nos fotobiorreatores anteriores, sem apresentar fase Lag nitidamente caracterizada, ingressando na fase exponencial de crescimento rapidamente.

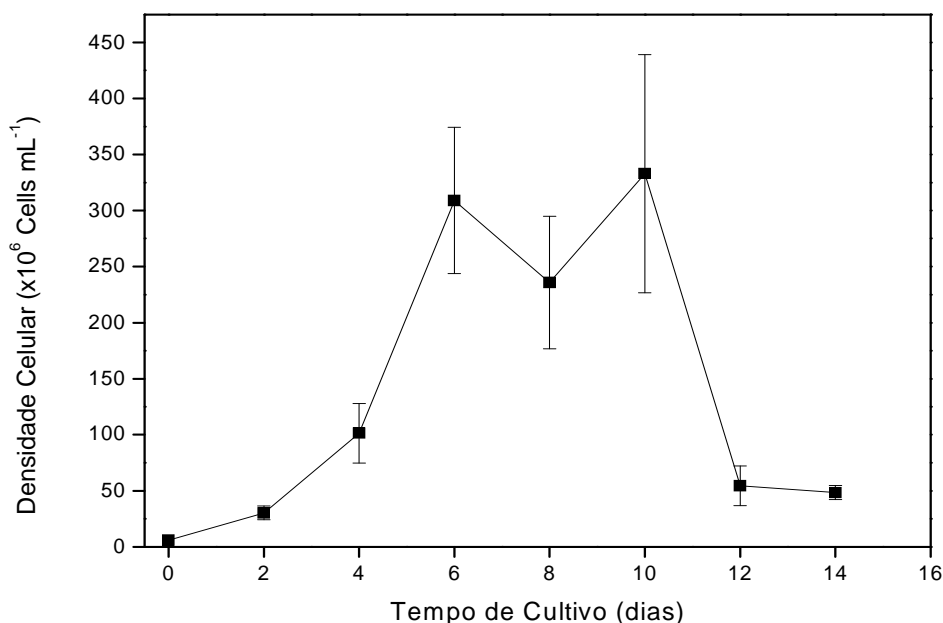


Figura 19: Curva de crescimento de *D.subspicatus* no terceiro Fotobiorreator desenvolvido.

A fase exponencial se estendeu até o tempo 06, sendo que entre este e o tempo 10 houve uma flutuação característica da fase estacionária, onde o número de divisões e novos indivíduos é relativamente semelhante ao número de mortes. É atingido o limite de crescimento do cultivo (TAVARES & ROCHA, 2003).

A partir do 10º dia teve início a fase de declínio e morte da cultura, característica da deficiência nutricional do meio bem como o excesso de metabólitos tóxicos presentes no meio, resultantes do acúmulo de células mortas em suspensão ou depositadas no fundo. Soma-se a isso, o auto-sombreamento dado pela extrapolação do limite populacional, onde a luz que incide sobre a cultura não é igualmente aproveitada por todos os indivíduos (RICHMOND, 2004; ANDERSEN, 2005).

A densidade celular máxima (DCM) foi de $329,1 \times 10^6$ e taxa de crescimento de 0,96 divisões por dia, respectivamente. Para este experimento foi realizada separação da biomassa por floculação e extração de lipídios para o perfil de ácidos graxos.

Com a utilização de $\text{NaOH } 6 \text{ mol L}^{-1}$, foi possível evidenciar a separação das fases entre a biomassa e sobrenadante, conforme a Figura 20. Em seguida a

biomassa foi filtrada a vácuo para posterior secagem e liofilização, conforme a Figura 21.



Figura 20: Separação entre biomassa (fundo) e o sobrenadante do cultivo, em funil de separação.

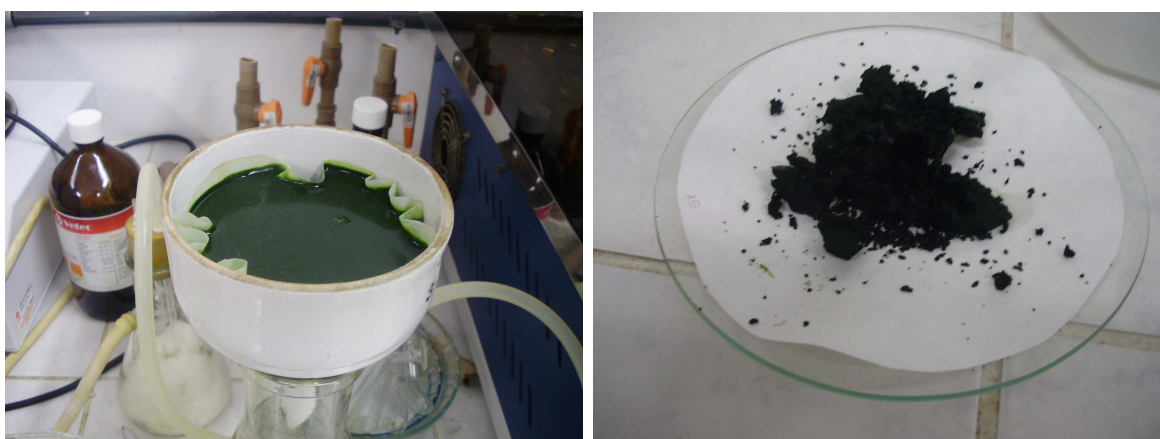


Figura 21: Filtragem a vácuo da biomassa e biomassa liofilizada.

As microalgas possuem grande quantidade de lipídios e acumulam triacilgliceróis em sua fase estacionária, resultado do acúmulo de lipídios como

reserva energética mediante variações da meio como estratégia de sobrevivência (DUSTAN, 1993).

O cultivo, nas condições descritas, resultou em uma densidade celular máxima de $329,1 \times 10^6$ células mL^{-1} em 14 dias de cultivo, sem aporte de CO_2 , a Tabela 4 sintetiza os demais resultados da biomassa cultivada em NPK.

TABELA 4 - Determinação de Biomassa e lipídios de *D. subspicatus*.

Parâmetros	Resultados
Tempo (dias de cultivo)	14
DCM ($\times 10^6$ células mL^{-1})	$329,1 \pm 6,26$
Biomassa (g L^{-1})	$0,93 \pm 0,05$
Lipídios (%)	$19,43 \pm 4,73$

A análise cromatográfica deste óleo, na Figura 21, indicou que o mesmo apresenta em maior quantidade o ácido oléico (C18:1). Esta é uma característica importante para o uso do óleo para a produção de biodiesel, uma vez que não é rico em poliinsaturados. A Figura 22 ilustra o cromatograma dos ácidos graxos encontrados.

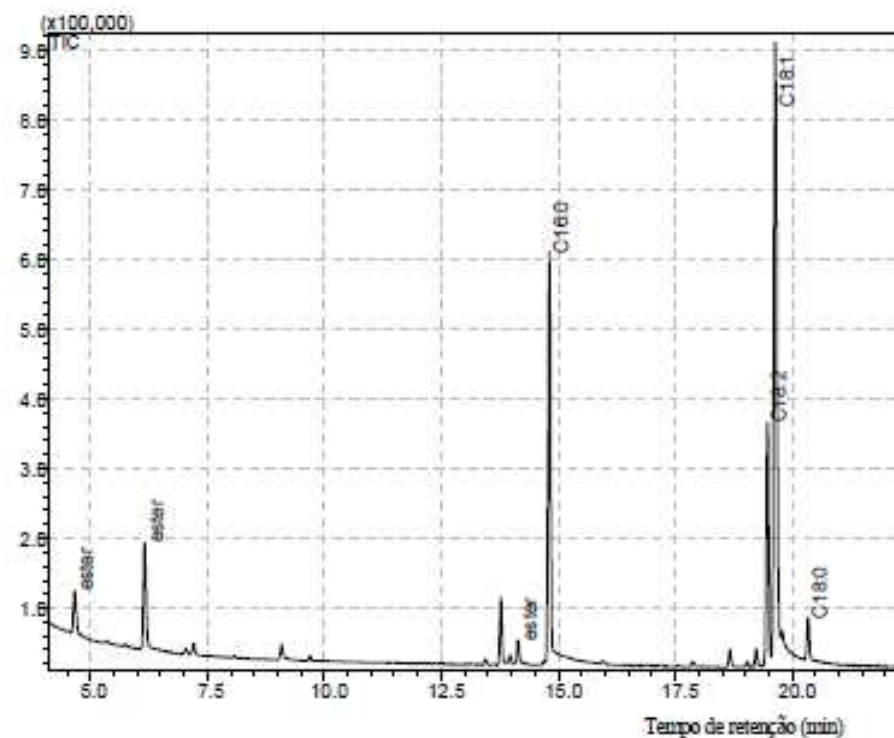


Figura 22: Cromatograma do óleo extraído da biomassa de *D. subspicatus*.

Radmann e Costa (2008) trabalhando com quatro espécies de microalgas (*Spirulina* sp.; *Scenedesmus obliquus*; *Synechococcus nidulans* e *Chlorella vulgaris*) encontraram ácidos graxos semelhantes mediante exposição das espécies ao dióxido de carbono conforme a Tabela 5.

TABELA 5 - Perfil de ácidos graxos (%) das microalgas *Spirulina* sp. LEB-18, *Scenedesmus obliquus* LEB-22, *Synechococcus nidulans* LEB-25 e *Chlorella vulgaris* LEB-106, cultivadas em 12% de CO₂; nd = não detectado (Radmann & Costa, 2008).

	<i>Spirulina</i> sp.	<i>S. obliquus</i>	<i>S. nidulans</i>	<i>C. vulgaris</i>
Ácidos graxos saturados				
C 15:0	0,08	2,14	0,08	0,14
C 16:0	2,54	3,22	0,73	4,36
C 17:0	1,92	1,02	8,18	1,26
C 18:0	0,33	0,91	0,78	1,20
C 20:0	12,60	0,70	0,13	29,10
C 22:0	Nd	nd	nd	0,15

C 23:0	Nd	2,06	1,15	0,97
C 24:0	Nd	0,58	0,09	nd
Ácidos graxos monoinsaturados				
C 14:1	0,26	0,57	0,36	0,21
C 15:1	1,26	1,57	0,09	2,30
C 16:1	41,02	37,01	36,04	23,47
C 17:1	2,45	6,28	2,73	1,80
C 18:1	8,04	18,27	16,9	21,81
C 20:1	0,14	0,67	nd	0,37
C 24:1	Nd	1,64	2,85	1,00
Ácidos graxos polinsaturados				
C 18:2	2,71	3,98	3,53	6,26
α – C 18:3	7,61	3,52	0,10	nd
γ – C 18:3	18,12	5,42	17,72	3,12
C 20:2	0,08	4,99	7,64	0,31
C 20:3	0,36	0,69	0,19	0,57
C 20:4	0,49	nd	0,12	0,49
C 20:5	Nd	nd	0,10	0,13
C 22:2	Nd	1,16	0,11	0,89
C 22:6	Nd	3,60	0,13	0,10

5.4 Elaboração do Fotobiorreator experimental em bancada (IV)

Esta foi a versão final, do fotobiorreator experimental para cultivo de *D. subspicatus* em efluente doméstico com suplemento de dióxido de carbono. Em relação ao anterior, neste modelo o volume circula através de todos os tubos até um reservatório, usado para aumento do volume de trabalho (Figura 23).



Figura 23: Vista geral do reservatório (caixa de acrílico) construído. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) bomba submersa; (2) flange para acoplamento de eletrodo (pH); (3) flange para entrada do volume da cultura pós tubos; (4) “engate rápido” de mangueira pneumática para entrada de gases do último tubo; (5) flange para saída do volume da cultura para os tubos; (6) flange para saída de gases do reservatório.

O modelo proposto partiu da concepção dos trabalhos de Anderson et al. (2002); Ugwu et al. (2007); Molina Grima et al. (1999) e Richmond (2004). Entretanto, a proposta visou a utilização de materiais de baixo custo com vistas futuramente a baratear o custo produtivo.

Neste reservatório há uma bomba submersa, que promove a circulação do volume líquido pelo sistema. Também consta um sistema de recirculação, onde parte

da vazão da bomba submersa é recirculada no próprio reservatório. Isso visando evitar o acúmulo de biomassa no fundo do reservatório. Tanto a vazão de recirculação do reservatório como a vazão de introdução do volume no primeiro tubo podem ser reguladas (Figura 24).

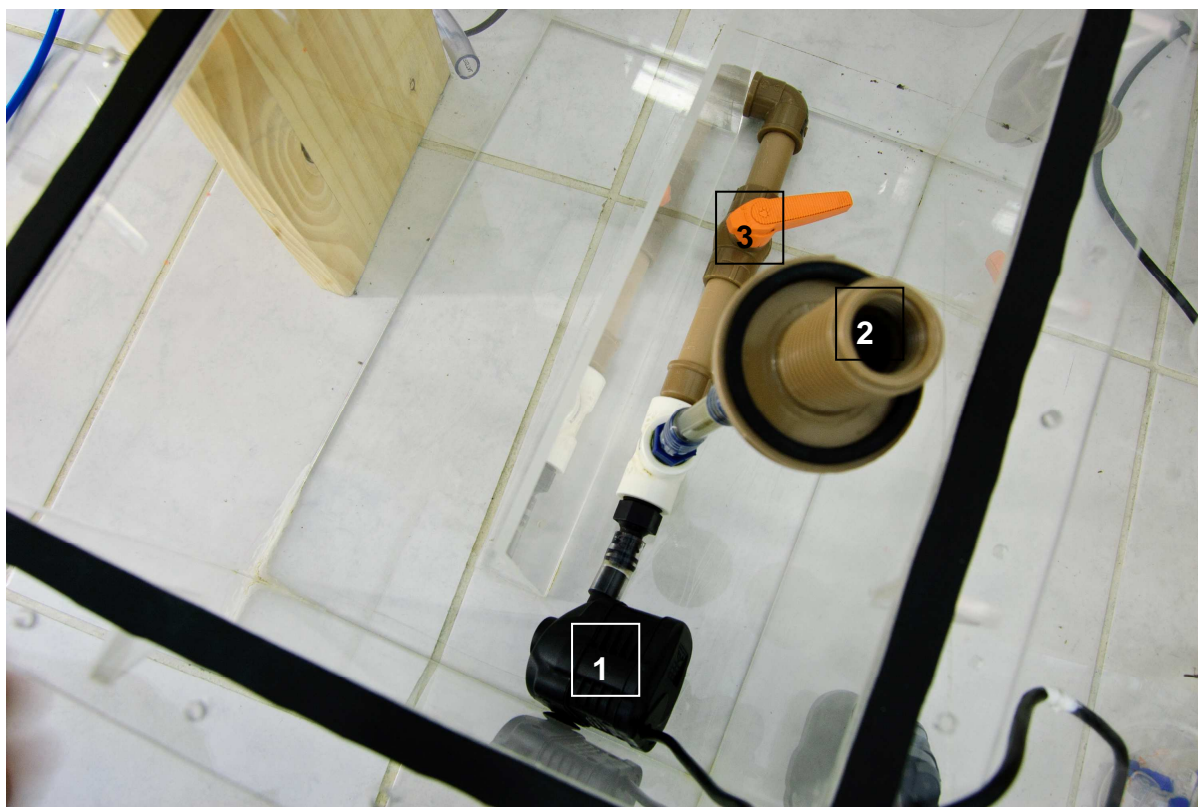


Figura 24: Vista geral do sistema de recirculação adotado no trabalho. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) bomba submersa; (2) flange para saída do volume da cultura para os tubos; (3) registro para controle de vazão de fluxo da bomba submersa.

Quanto aos gases, neste modelo houve um fluxo semicontínuo. Um compressor de ar diafragmático introduziu o ar (atmosférico) no difusor do primeiro tubo. No topo deste tubo o gás de exaustão foi coletado e enviado à outro compressor diafragmático (devidamente vedado para utilizar somente os gases dos tubos, sem interferência externa, conforme Figura 25). Este segundo compressor introduziu a mistura de gases remanescente do primeiro tubo no difusor do segundo. O mesmo processo foi adotado entre o segundo e terceiro tubo.

O transporte dos gases entre os tubos e o reservatório foi realizado por mangueira pneumática presa por engate específico (Figura 26). Todas as mangueiras

pneumáticas receberam válvula anti-refluxo, garantindo o sentido unilateral do fluxo gasoso durante todo o período, independente da pressão contrária exercida (Figura 27).

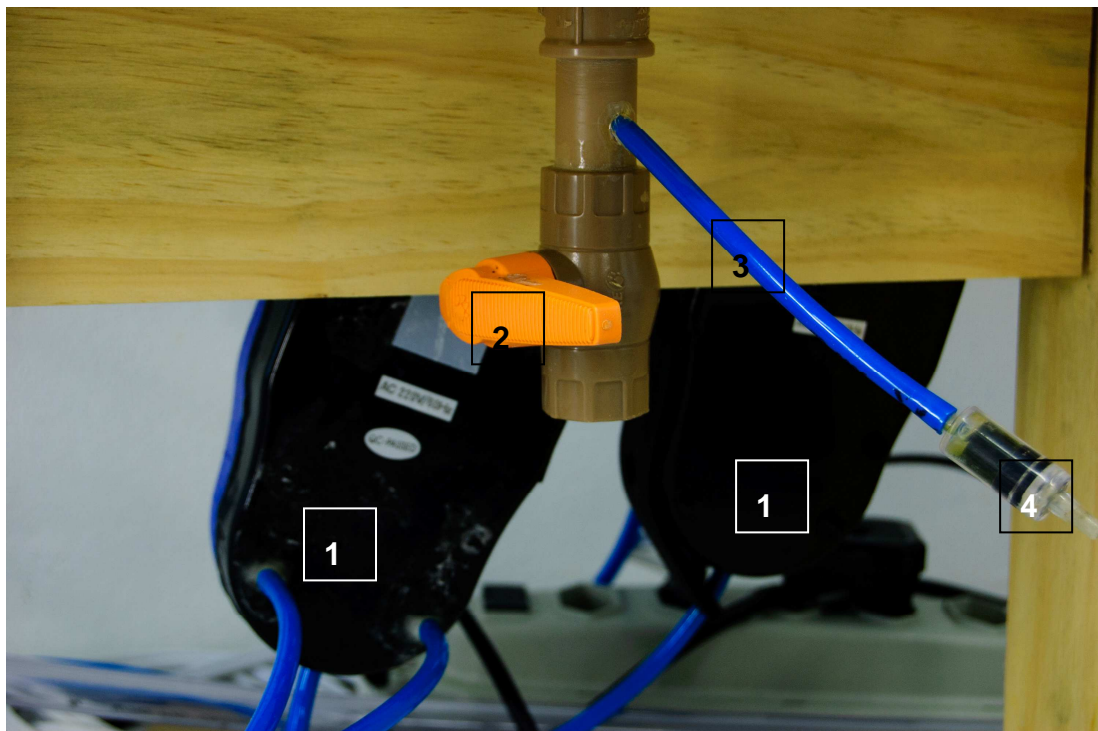


Figura 25: Vista geral dos compressores diafrâmicos para fluxo semi-contínuo de gases. A numeração indica as partes constituintes do sistema: (1) compressor diafrâmico; (2) registro da saída de tubo; (3) mangueira pneumática de 6,0mm para entrada de gases e formação da coluna de bolhas; (4) válvula anti refluxo de gases.

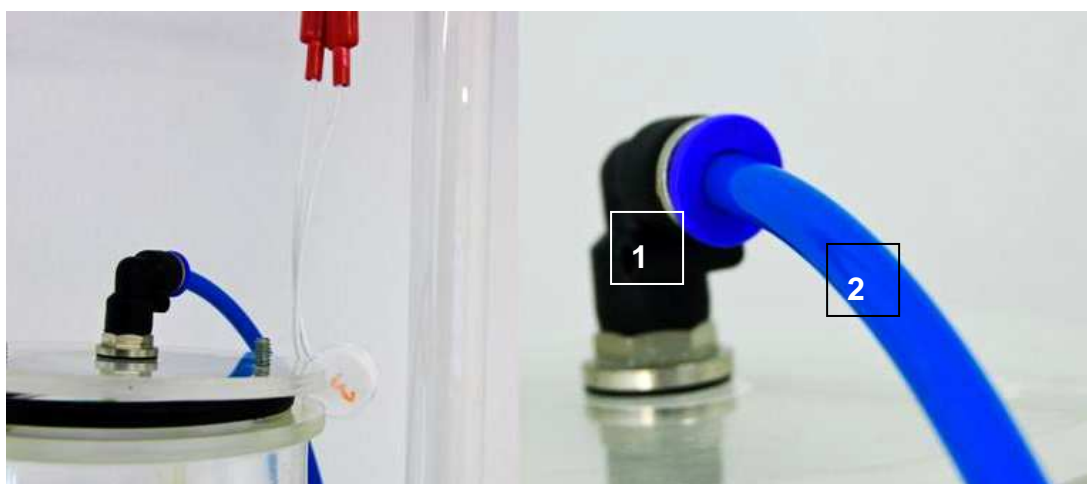


Figura 26: Vista em detalhe do engate pneumático (1) para fixação das mangueiras pneumáticas (2).

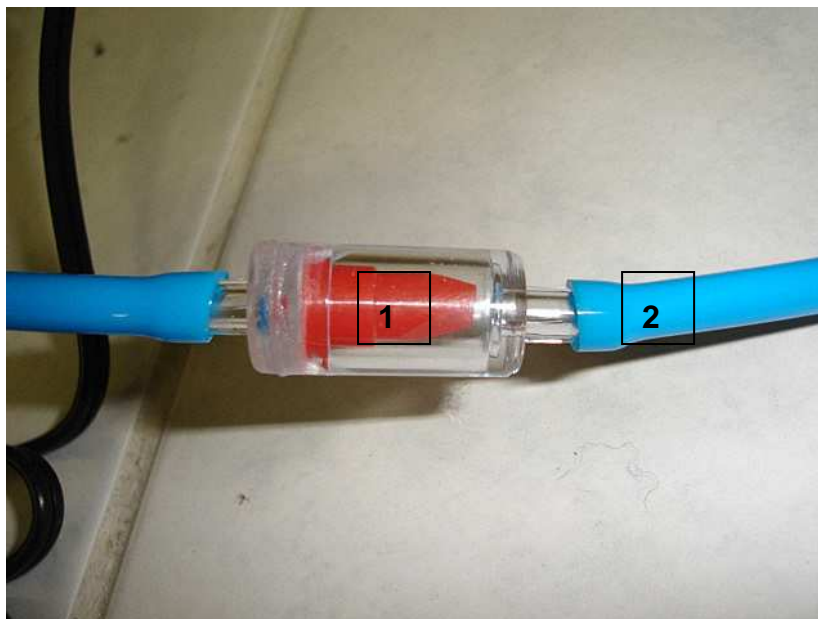


Figura 27: Detalhe do tipo de válvula anti-refluxo (1) utilizada nas mangueiras pneumáticas (2).

A mistura de gases da saída do terceiro tubo foi borbulhada em uma solução de NaOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, para fixação do CO_2 que não foi absorvido (Figura 28). O aporte de CO_2 foi realizado por cilindro, com pressão e vazão controlada por fluxômetro fixado na base da estrutura suporte do sistema. A vazão de trabalho foi de 3 L min^{-1} , em regime intermitente de três minutos a cada 2 horas, controlada por válvula solenóide acoplada a um temporizador (Figura 29).



Figura 28: Erlenmeyer (*Trap*) com solução alcalina (1) para fixação do CO_2 não absorvido pelo sistema.



Figura 29: Cilindro de CO₂ (1), válvula solenóide (2), manômetro do cilindro (3) e fluxômetro (4) utilizados no sistema.

A figura 30 mostra um desenho esquemático geral do fotobiorreator final. O volume de trabalho utilizado foi de 30 litros. O detalhamento do sistema de dióxido de carbono, do reservatório e do sistema de tubos encontra-se nos ANEXOS A, B e C respectivamente. Os tubos permaneceram em sala de cultivo, na posição vertical, uma vez que o perfil hidrodinâmico, em especial a pressão hidrodinâmica, não comprometeu o desenvolvimento de *D. subspicatus* no sistema, não havendo nesse caso a necessidade da inclinação dos tubos.

5.4.1 Análise do crescimento de *D. subspicatus*

A partir do cultivo no fotobiorreator IV, foram realizadas todas as análises descritas para a biomassa e para a qualidade do efluente final. São sobre estes dados que foram feitas as considerações estatísticas, os demais protótipos de fotobiorreatores anteriores constituíram a evolução da pesquisa visto que até então não havia trabalho algum neste sentido na Universidade de Santa Cruz do Sul.

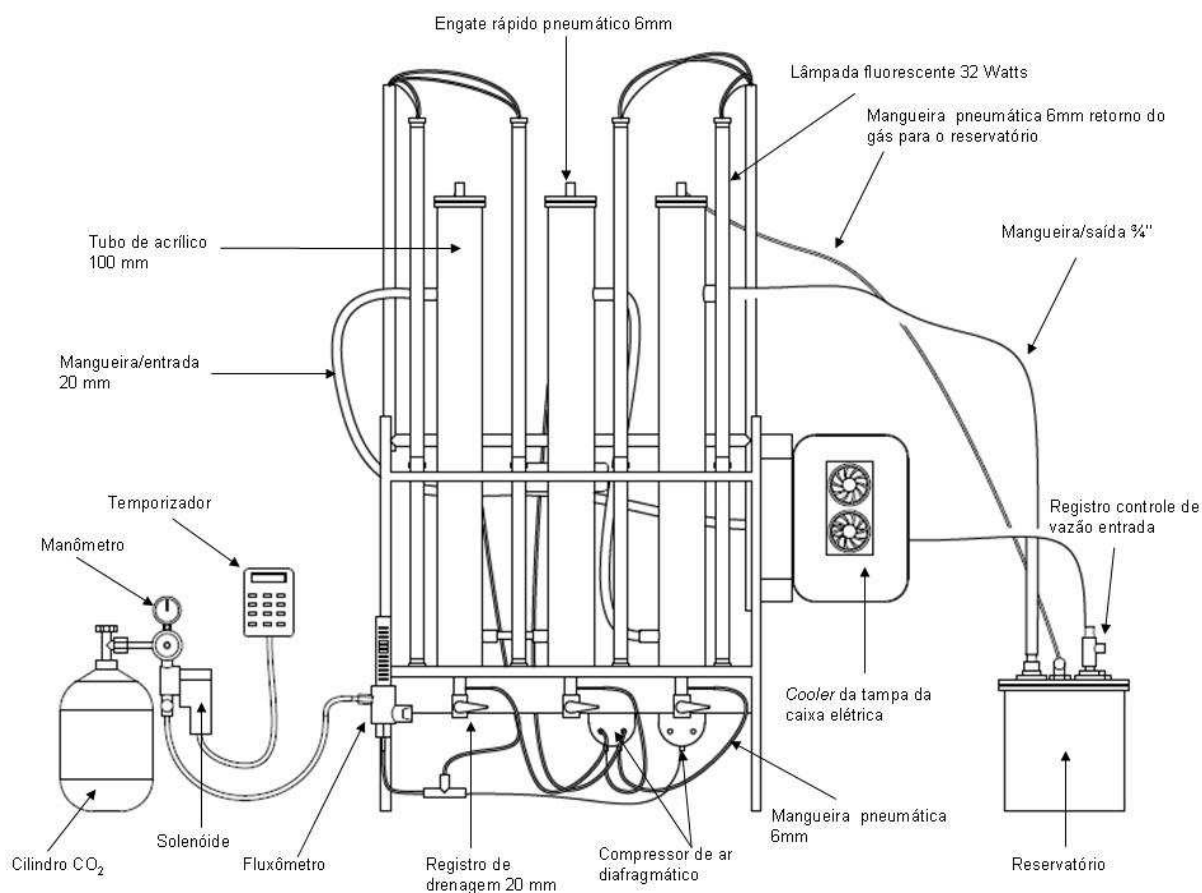


Figura 30: Fotobiorreator final.

5.4.2 Velocidade de crescimento

Para o cultivo de *D. subspicatus* em Efluente sem aporte de CO₂ a velocidade de crescimento, dado pelo valor de k foi igual a 0,664 divisões por dia, enquanto que para o cultivo com Efluente suplementado com CO₂ o valor de k foi igual a 0,573. A velocidade de crescimento representa o número de divisões celulares por unidade de tempo (dias) e é específica de cada unidade experimental (DERNER, 2006).

5.4.3 Tempo de cultivo

Com relação ao tempo de cultivo para alcançar a fase estacionária de crescimento, foi observado que para a cultura em meio efluente sem aporte de dióxido de carbono apresentou um tempo de cultivo breve, três dias, e também não

houve uma fase estacionária definida. O resultado sugere hipóteses como: limitação de carbono, precipitação de fosfatos ou quantidades mínimas de nutrientes, para ser testadas em outros experimentos. Sobretudo não há até o momento dados na literatura sobre condições semelhantes a este cultivo.

Em relação ao cultivo com aporte de CO₂, o tempo de cultivo foi maior, sendo a fase estacionária atingida somente após o sétimo dia de cultivo. Nota-se uma rápida adaptação de *D.subspicatus* ao meio.

5.4.4 Densidade celular máxima (DCM)

A densidade celular máxima é definida como o máximo valor obtido em número de células por mililitro, antes da cultura alcançar a fase estacionária da curva de crescimento, independentemente do tempo transcorrido desde o início do cultivo.

As Tabelas 6 e 7 apresentam os dados de pH; temperatura e densidade celular coletados para o experimento em meio efluente, sem aporte de CO₂ e com aporte, respectivamente.

TABELA 6 - Dados do cultivo em meio efluente sem aporte de CO₂.

pH			Densidade celular (x10 ⁶ cels mL ⁻¹)			Temperatura (°C)		
média (n=2)	s±	CV (%)	média (n=2)	s±	CV (%)	média (n=2)	s±	CV (%)
7,85	0,00	0,00	4,45	0,00	0,00	25,50	0,00	0,00
8,53	0,17	1,97	8,03	0,70	8,74	26,50	0,71	2,67
8,70	0,09	1,02	8,49	1,02	12,00	27,65	1,20	4,35
9,04	0,07	0,82	8,27	0,21	2,53	28,15	1,20	4,27
8,65	0,06	0,71	7,20	0,98	13,55	28,00	0,00	0,00
8,61	0,00	0,04	7,32	3,56	48,69	28,20	0,57	2,01
8,45	0,31	3,72	5,28	4,42	83,65	29,50	0,71	2,40
8,20	0,29	3,58	2,42	1,61	66,44	29,10	1,56	5,35

s± = desvio padrão; CV(%) = Coeficiente de Variação.

TABELA 7 - Dados do cultivo em meio efluente com aporte de CO₂.

pH			Densidade celular (x10 ⁶ cels mL ⁻¹)			Temperatura (°C)		
média	s±	CV (%)	média	s±	CV (%)	média	s±	CV (%)
7,13	0,48	6,67	4,45	0,00	0,00	29,67	0,58	1,95
6,15	0,34	5,47	8,21	1,78	21,64	29,67	0,29	0,97
5,65	0,91	16,10	15,24	2,03	13,32	26,00	0,00	0,00
5,30	0,89	16,89	17,64	4,22	23,95	27,77	0,57	2,07
5,03	0,95	18,94	18,01	9,52	52,85	29,00	0,96	3,30
4,56	0,74	16,21	22,68	20,88	92,08	32,00	0,00	0,00
5,20	0,63	12,11	25,98	31,57	121,51	26,67	0,25	0,94
5,33	0,16	2,92	23,22	28,15	121,27	29,73	0,40	1,36

Para visualização das tendências dos dados são apresentadas as curvas de crescimento para os meios testados, com e sem aporte de dióxido de carbono na Figura 31 e de pH na Figura 32.

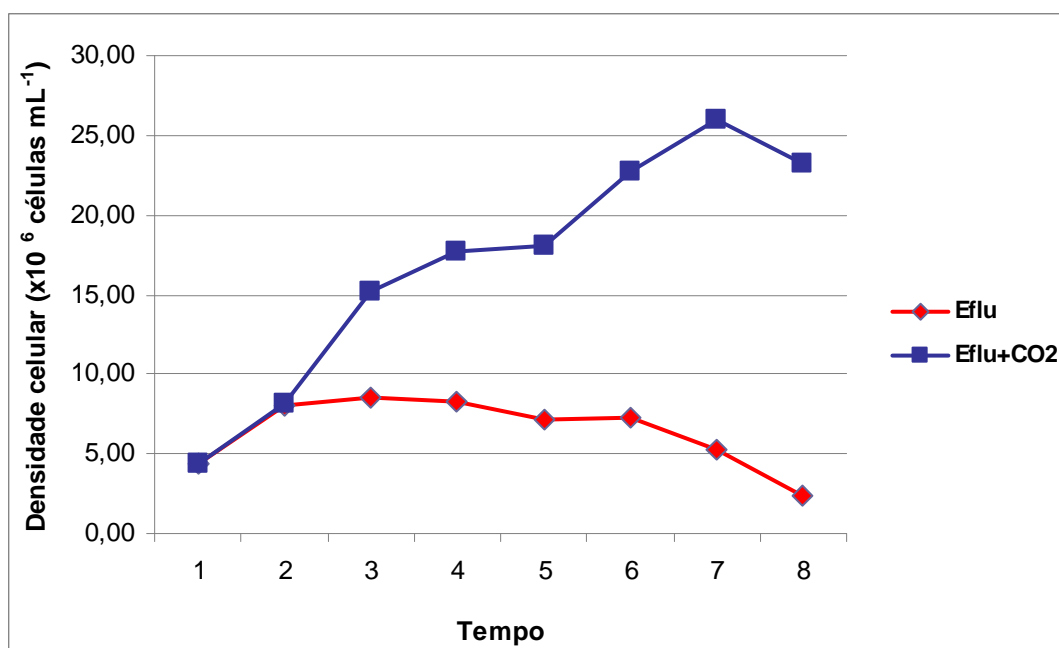


Figura 31: Curvas de crescimento de *D. subspicatus* para os meios testados no fotobiorreator final. As curvas representam a média de duas repetições de cada experimento.

Para o cultivo de *D. subspicatus* sem aporte de dióxido de carbono, a densidade celular máxima obtida foi de 8,49 x10⁶ células mL⁻¹, atingida no terceiro dia de cultivo. Já para o cultivo com suplemento de CO₂ a DCM foi de 25,98 x10⁶ células mL⁻¹ atingida no sétimo dia de cultivo.

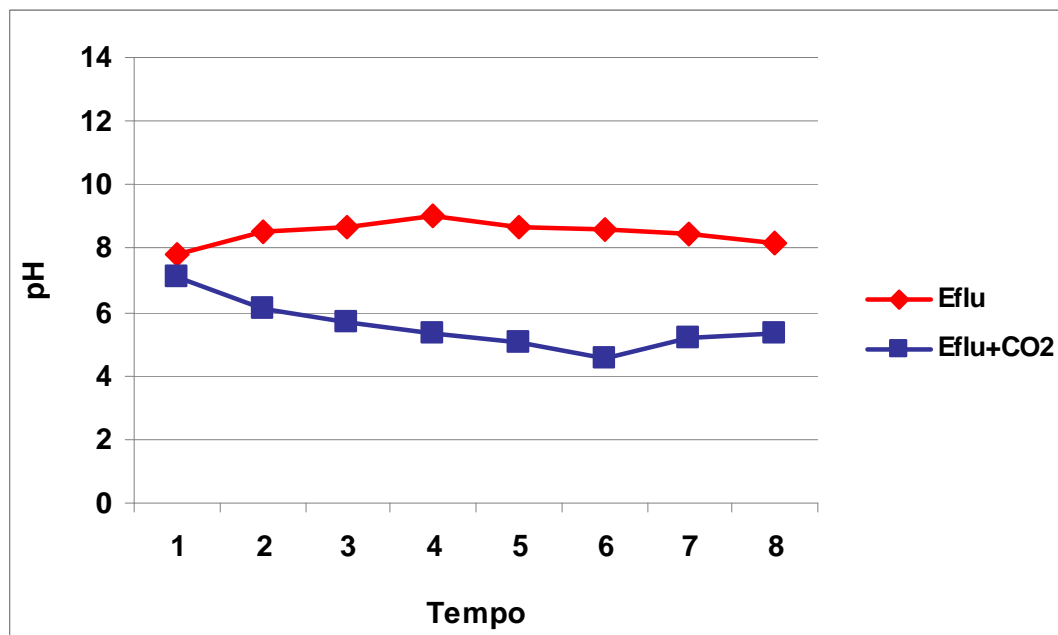


Figura 32: Curvas de pH durante os cultivos com e sem aporte de dióxido de carbono. As curvas representam a média de duas repetições de cada experimento.

Fica evidente a diferença da densidade celular entre os sistemas de cultivo, tal resultado aponta para o carbono como elemento limitante do crescimento, e que *D. subspicatus* consegue se desenvolver em cultivo mixotrófico, aceitando o dióxido de carbono como fonte de carbono para crescimento. Isso torna a espécie atrativa para uso em fixação de dióxido de carbono proveniente da queima de carvão, por exemplo, proveniente de usinas termoelétricas. Contudo não cabe generalizar o aumento considerável da DCM a apenas este fator isoladamente, mais estudos são oportunos para verificar o comportamento da espécie nessas condições.

Quanto a DCM do cultivo sem aporte de CO₂ o resultado aponta para uma possível carência nutritiva do efluente, em termos de macronutrientes, como carbono, nitrogênio e fósforo. A breve fase exponencial pode estar relacionada aos nutrientes ainda disponíveis do volume de inoculo (em NPK), com isso mediante as sucessivas divisões exponenciais a escassez de nutrientes pode ter provocado o rápido início da fase de declínio da cultura.

Os valores de pH corroboram os resultados da DCM. No caso do cultivo sem dióxido de carbono suplementar, o pH teve discreta variação, indicando pouca atividade fotossintética ao longo do tempo, conforme visto na Tabela 5.

Já no cultivo com aporte de CO₂ houve uma acidificação do meio de cultura, como apresentado na Tabela 6, com um valor mínimo de 4,56 tornando a subir ao

final do cultivo para 5,33. A princípio, a vazão utilizada neste trabalho contribuiu sensivelmente para estes valores de pH, sendo o CO_2 um gás que hidrolisa a água e produz H_3O^+ .

Segundo Esteves (1998), em meio aquoso o carbono inorgânico pode estar na forma de CO_2 , H_2CO^3 (ácido carbônico), HCO_3^- (bicarbonato) ou CO_3^{2-} (carbonato) e suas proporções dependem do pH, sendo que, conforme o aumento do pH (alcalinização) as proporções de bicarbonato e carbonato aumentam no meio de cultura em função dos equilíbrios de neutralização do H_2CO_3 .

Assim, numa cultura com pH ácido ocorre uma maior disponibilidade de CO_2 , sendo esta (o CO_2) a fonte de carbono preferida pelas microalgas, uma vez que este composto se difunde rapidamente (adsorção passiva) da água para o interior das células e é usado diretamente nos processos de fixação. Já o bicarbonato, é incorporado ativamente, gerando um gasto energético para suportar este processo (RAVEN, 1988; FALKOWSKI & RAVEN, 1997).

O efeito do pH em reatores para o cultivo de microalgas é complexo, uma vez que existe dificuldade em dissociar os efeitos diretos do crescimento microbiano, dos efeitos colaterais expressos em termos de modificações no sistema $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ (dióxido de carbono/bicarbonato/carbonato) bem como no equilíbrio $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ (amônia/íon amônio) (BERENGUEL et al., 2004).

A temperatura apresentou elevação, para ambos os cultivos, ultrapassando o limite máximo para *D. subspicatus* conforme ABNT-NBR 12648 (2005). Tal fato pode estar relacionado ao trabalho da bomba submersa que não foi desligada em nenhum momento.

Conforme salienta Grobbelaar (2004), a assimilação de nutrientes depende dos principais fatores que influenciam o crescimento microalgal, tais como: Luz, temperatura e turbulência. A temperatura, segundo Goldman e Carpenter (1974), influencia diretamente as reações enzimáticas, sendo que estas dobram com o aumento da temperatura até um determinado limite, característico para cada espécie.

Houve o aumento do **pH** além da faixa ótima para *D. subspicatus*, que segundo a ABNT-NBR-12648 fica entre 7,0 e 7,2, no cultivo sem aporte de dióxido de carbono, contribuindo para o declínio do crescimento. Isto leva a inferir, embora sejam precisos mais estudos para comprovar, que a cultura não obteve êxito na aclimação em

tempo hábil frente à carga de nutrientes presentes e o pH adverso. O inverso ocorreu no cultivo com CO₂, onde o pH apresentou declínio a níveis em torno de 5.

O efeito do pH em reatores para o cultivo de microalgas é complexo, uma vez que existe dificuldade em dissociar os efeitos diretos do crescimento microbiano, dos efeitos colaterais expressos em termos de modificações no sistema CO₂/HCO₃⁻/CO₃²⁻ (dióxido de carbono/bicarbonato/carbonato) bem como no equilíbrio NH₃/NH₄⁺ (amônia/íon amônio) (BERENGUEL et al., 2004).

5.4.5 Caracterização Analítica do Efluente da ETE UNISC

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente antes deste receber o inóculo de *D. subspicatus* no fotobiorreator. A primeira e segunda coleta constitui o efluente inicial utilizado na primeira e segunda repetição do experimento sem aporte de dióxido de carbono, respectivamente. Por fim, a terceira e quarta coleta constitui o efluente inicial utilizado no cultivo com dióxido de carbono.

TABELA 8 - Resultados obtidos quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC antes da inoculação de *D. subspicatus* no fotobiorreator.

Parâmetro	Unidade	1ªColeta	2ªColeta	3ªColeta	4ªColeta	média (n= 4)	s±	CV(%)
Alcalinidade bicarbonatos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	50,50	133,80	55,50	85,90	81,43	38,26	46,99
Alcalinidade carbonatos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	282,80	0,00	262,60	0,00	136,35	157,66	115,63
Alcalinidade hidróxidos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcalinidade total	mg L ⁻¹	333,30	133,80	378,10	85,90	232,78	144,44	62,05
DBO ₅	mg L ⁻¹ (O ₂)	20,00	33,00	22,50	41,50	29,25	9,92	33,92
DQO	mg L ⁻¹	114,00	283,00	82,00	103,00	145,50	92,62	63,66
Fósforo total	mg L ⁻¹	10,10	11,30	11,20	3,75	9,09	3,60	39,61
Nitrogenio amoniacal	mg L ⁻¹	36,10	54,30	56,40	19,10	41,48	17,48	42,15
Nitrogênio total Kjeldahl	mg L ⁻¹	44,50	70,70	52,50	22,10	47,45	20,14	42,45

s± = desvio padrão; CV(%) = Coeficiente de Variação.

O efluente apresentou grande variação na sua composição quanto aos parâmetros da qualidade da água, como pode ser observado na Tabela 8. Os intervalos entre as coletas representam períodos onde havia presença de alunos no campus (coletas 1 e 2) e o início do período de férias (coletas 3 e 4) onde o número

de usuários associados à geração de efluentes é reduzido. Com isso também é reduzido o aporte de nutrientes ao efluente da ETE-UNISC.

A Tabelas 9 e 10 mostram os resultados obtidos com o cultivo de *D. subspicatus* quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes (inicial) e após (final) o cultivo de *D. subspicatus* no fotobiorreator, primeiramente as duas repetições sem o aporte de CO₂ e em seguida as duas repetições com o aporte de CO₂. O Tempo de Detenção Hidráulica (TDH), ou seja, o período em que a cultura de algas ficou em contato com o efluente (meio de cultivo) é o próprio período de duração do experimento, no caso sete dias.

Os ANEXOS D, E, F e G mostram os laudos de análise do efluente, realizada pela Central Analítica da UNISC para os resultados da tabela 8, com exceção do valor de pH, sendo que este foi medido no momento de encaminhamento das amostras, ainda na sala de cultivo do fotobiorreator.

TABELA 9 - Resultados obtidos com o cultivo de *D. subspicatus* quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes (inicial) e após (final) o cultivo de *D. subspicatus* no fotobiorreator com TDH de sete dias, para duas repetições do experimento **sem o aporte de CO₂**.

Cultivo sem aporte de CO ₂		1ª REPETIÇÃO		2ª REPETIÇÃO	
Parâmetro	Unidade	(INICIAL)	(FINAL)	(INICIAL)	(FINAL)
Alcalinidade bicarbonatos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	50,50	60,60	133,80	204,50
Alcalinidade carbonatos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	282,80	446,40	0,00	0,00
Alcalinidade hidróxidos	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcalinidade total	mg L ⁻¹	333,30	507,00	133,80	204,50
DBO ₅	mg L ⁻¹ (O ₂)	20,00	23,80	33,00	48,70
DQO	mg L ⁻¹	114,00	75,00	283,00	88,00
Fósforo total	mg L ⁻¹	10,10	11,40	11,30	10,80
Nitrogenio amoniacal	mg L ⁻¹	36,10	77,80	54,30	73,50
Nitrogênio total Kjeldahl	mg L ⁻¹	44,50	78,50	70,70	76,40
pH		7,85	8,40	7,78	7,99

TABELA 10 - Resultados obtidos com o cultivo de *D. subspicatus* quanto aos parâmetros da caracterização analítica do efluente da ETE-UNISC, antes (inicial) e após (final) o cultivo de *D. subspicatus* no fotobiorreator com TDH de sete dias, para duas repetições do experimento **com o aporte de CO₂**.

Cultivo com aporte de CO ₂		1ª REPETIÇÃO		2ª REPETIÇÃO	
Parâmetro	Unidade	(INICIAL)	(FINAL)	(INICIAL)	(FINAL)
Alcalinidade bicarbonatos	mgL ⁻¹ (CaCO ₃)	55,50	194,40	85,90	414,10
Alcalinidade carbonatos	mgL ⁻¹ (CaCO ₃)	262,60	0,00	0,00	0,00
Alcalinidade hidróxidos	mgL ⁻¹ (CaCO ₃)	0,00	0,00	0,00	0,00
Alcalinidade total	mgL ⁻¹	378,10	194,40	85,90	414,10
DBO ₅	mgL ⁻¹ (O ₂)	22,50	56,70	41,50	42,90
DQO	mgL ⁻¹	82,00	323,00	103,00	114,00
Fósforo total	mgL ⁻¹	11,20	10,00	3,75	80,00
Nitrogenio amoniacal	mgL ⁻¹	56,40	27,30	19,10	28,60
Nitrogênio total Kjeldahl	mgL ⁻¹	52,50	40,30	22,10	28,80
pH		7,47	5,44	6,79	5,22

Os ANEXOS H, I, J e K mostram os laudos de análise do efluente, realizada pela Central Analítica da UNISC para os resultados da tabela 9, com exceção dos valores de pH, cuja aferição foi realizada conforme o exposto no parágrafo anterior.

Houve aumento da **alcalinidade** do início para o final do experimento. Segundo Hill e Bolte, (2000) e Bjornsson et al. (2001), efluentes residuais urbanos/domésticos, de perfil anaeróbio, como é o caso do efluente utilizado neste trabalho apresentam valores elevados de alcalinidade, sendo o bicarbonato o maior constituinte. O mesmo não foi verificado no cultivo com aporte de CO₂, onde o CO₂ contribuiu para a acidificação do meio.

Microalgas autotróficas requerem carbono inorgânico preferencialmente para seu crescimento, sendo o CO₂ a forma preferencialmente utilizada em fotobiorreatores para microalgas (KEFFER, 2002; YAMASAKI, 2003). Na ausência deste, o íon bicarbonato é preferencialmente utilizado (PARK et al., 2010). Contudo, segundo o mesmo autor, na presença de amônio a assimilação do bicarbonato é um processo ativo (requer energia celular) por isso a presença do dióxido de carbono torna-se necessária para promover a contínua assimilação do amônio.

Isto pode ser observado na primeira repetição do cultivo com aporte de CO₂ onde o valor do nitrogênio amoniacal foi reduzido. Já na segunda repetição o comportamento foi inverso, houve aumento do valor, possivelmente atribuído também à fase prolongada de declínio e morte da cultura.

Neste experimento, o compressor diafragmático do primeiro tubo injetou ar do ambiente no sistema, contendo CO₂ do ambiente natural. O inóculo estava adaptado a estas condições (fonte de carbono). Entretanto o aporte de CO₂ de um compressor apenas torna-se desprezível no volume de trabalho utilizado (30 litros). Com isso a remoção do amônio foi prejudicada paralelamente, no caso do cultivo sem o aporte de CO₂.

A resolução 128/CONSEMA preconiza para o parâmetro **Nitrogênio amoniacal** o limite máximo de 20 mg L⁻¹, para efluentes de esgoto doméstico. Conforme Sperling (1996), a amônia (matéria nitrogenada inorgânica) pode apresentar-se tanto na forma de íon (NH₄⁺), como na forma livre não ionizada (NH₃), segundo um equilíbrio dinâmico. O aumento do pH e da temperatura contribuem para o aumento da fração não ionizada (NH₃) e para a redução da fração ionizada (NH₄⁺), o que é muito importante, visto que amônia livre (NH₃) é extremamente tóxica. A decomposição bacteriana do material protéico e a hidrólise da uréia transformam nitrogênio orgânico em amônia.

Em esgotos domésticos frescos, cerca de 60% do nitrogênio presente está na forma de nitrogênio orgânico e 40% na forma de nitrogênio amoniacal (JENKINS e HERMANOWICZ, 1991). Cita-se que, para esgotos sanitários, a concentração de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) no efluente é da ordem de 40 a 60 mg L⁻¹ de N e dessa concentração total, aproximadamente 75% é nitrogênio amoniacal e 25% é nitrogênio orgânico (COLLETTA, 2008; VAN HAANDEL, 1999).

Conforme Abeliovich (2004), a concentração de amônia em esgotos Domésticos varia entre 70-80 mg L⁻¹, seguida de completa decomposição de uréia e proteólise. A amônia ionizada é inofensiva para as microalgas, pois seu transporte intracelular é controlado por mecanismos específicos os quais não permitem o acúmulo de concentração em excesso de amônia ionizada (NH₄⁺). Por outro lado, a amônia livre penetra livremente nas membranas biológicas e é extremamente tóxica. Uma combinação de 30 mg L⁻¹ de amônia livre em pH 8.2, por exemplo, pode causar inibição do crescimento (RICHMOND, 2004).

Martínez et al. (2000) trabalhando com *Scenedesmus obliquus*, em condições semelhantes, encontraram 100% de remoção de amônio em um tempo de cultura de 188,33h. Kim et al. (2010) trabalhando com *Chlorella vulgaris* em efluente com características semelhantes, em batelada com sistema fechado obteve 50% de

remoção em 48 horas, 24 horas após a fase de adaptação da cultura. Park et al. (2010) obtiveram remoção de nitrogênio amoniacal de efluente de digestão anaeróbica por *Scenedesmus* sp. a uma taxa de crescimento de 0,038 div/dia da ordem de $6,46 \text{ mg L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

No início do cultivo sem aporte de CO_2 houve aumento exponencial da cultura, o aumento da taxa fotossintética provoca alcalinização do meio por retirada de CO_2 e deslocamento do equilíbrio. Isto ficou evidenciado conforme as Figuras 30 e 31, onde o pH passou de 8. Soma-se a isso o leve aumento na temperatura fora da faixa ideal para *D. subspicatus*. Conforme citado anteriormente, o aumento da temperatura e do pH favorecem a fração da amônia livre, tóxica, e além disso, os valores iniciais do nitrogênio amoniacal encontravam-se acima de 30 mg L^{-1} .

Baseado nesse contexto, aliado à carência de carbono, é possível sugerir este panorama como um dos responsáveis pelo rápido decréscimo do crescimento da cultura visualizado na figura 30. Não foi encontrado até o momento na literatura, para esta espécie uma relação para o fator de carga recomendado, ou seja, o limite de carga orgânica aceitável para o desenvolvimento celular de *D. subspicatus* em efluentes dessa natureza.

O declínio da curva aponta a morte celular sendo estas células rompidas naturalmente ou por agitação hidrodinâmica. Isso promove a liberação de material protéico e como citado anteriormente, a decomposição bacteriana do material protéico e a hidrólise da uréia transformam nitrogênio orgânico em amônia, fato que pode ter contribuído para o aumento do nitrogênio amoniacal encontrado na análise final do efluente. Contudo não foram feitas análises microbiológicas para identificação dos demais microorganismos possivelmente presentes no meio visto a exposição deste meio de cultivo no momento da inoculação.

O mesmo não ocorreu no experimento com uso de CO_2 suplementar, onde ocorreu a diminuição da quantidade de nitrogênio amoniacal na primeira repetição. Como citado anteriormente, pode se inferir que a presença do dióxido de carbono contribuiu para a contínua assimilação do nitrogênio amoniacal. Contudo, na segunda repetição isso não ocorreu da mesma forma.

Para o parâmetro **fósforo total**, a legislação CONSEMA 128/2006 não cita um limite máximo para efluentes domésticos, pois a vazão da ETE-UNISC é de 670 m^3

dia⁻¹ (DÜPPONT, 2010), e os padrões de lançamento de efluente devem ser atendidos em ETE's com vazão acima de 1000 m³ dia⁻¹. Conforme Oliveira e Sperling (2005) em estudos comparando resultados de concentrações de fósforo total observadas e esperadas, presentes em efluentes tratados pelo sistema UASB+pós-tratamento, observaram uma concentração de fósforo entre 1 a 8 mg L⁻¹, enquanto que na literatura comparada, a faixa de concentração de fósforo é de 4 mg L⁻¹. Valores aproximados foram encontrados por Souza et. al (2004), em efluentes domésticos tratados com sistema UASB, onde a concentração de fósforo total variou de 5,6 mg L⁻¹ a 7,0 mg L⁻¹.

Houve um aumento do valor de fósforo total, para ambos os experimentos. É possível que este acréscimo esteja relacionado à liberação de fósforo da matéria orgânica resultante das células mortas do cultivo que ficaram em suspensão no meio. Além disso como a fase de declínio teve início no terceiro dia, é possível também que o fósforo presente no meio de cultivo do inoculo utilizado (N:P:K) tenha interferido na amostra.

Voltolina et al. (1998) alcançou remoção de fósforo na ordem de 50% em efluente doméstico com *Scenedesmus*. sp. Já Zhang et al. (2008) reportam remoção de fosfato total por *Scenedesmus* sp., durante período semelhante, com 100% de eficiência em efluente doméstico.

Em relação à literatura, pode-se constatar que o cultivo de *D. subspicatus* nas condições testadas, sem aporte de CO₂ não foi eficiente, sobretudo pelo comportamento de declínio do crescimento observado após breve período de inoculação.

Para o cultivo em presença de CO₂ suplementar houve um decréscimo no valor do fósforo total do efluente na primeira repetição e um aumento na segunda, possivelmente devido ao maior crescimento populacional do cultivo, onde um maior número de indivíduos promoveu a assimilação do nutriente.

Para os parâmetros de **DBO₅** e **DQO**, a resolução do 128 do CONSEMA permite o valor máximo de 80 mg L⁻¹ e 260 mg L⁻¹, respectivamente. Para o experimento sem aporte de CO₂ foi observado um aumento da DBO₅ e um declínio da DQO em ambas as repetições.

Considerando que estes parâmetros são os mais utilizados para avaliar a presença de matéria orgânica no efluente, fica evidente a influência da biomassa em

suspensão celular de *D. subspicatus* no resultado da análise, por restos celulares em suspensão presentes ao longo do cultivo.

Para o experimento com aporte de CO₂ houve aumento de ambos os parâmetros nas duas repetições do experimento. Isto em princípio pode ser corroborado pelo aumento da densidade celular, visto que um número maior de células ao final do cultivo estariam presentes na amostra coletada, aumentando a DBO₅. Além disso, crescimento da cultura se traduz em mais fotossíntese, logo mais oxigênio dissolvido no meio que pode ser oxidado aumentando a DQO.

5.4.6 Análise da biomassa e fração lipídica de *D. subspicatus*

Quanto aos valores do peso seco da biomassa total para o volume trabalhado, peso seco da biomassa em g L⁻¹ e teor de óleo (%), a Tabela 11 apresenta os valores para cada experimento respectivamente.

TABELA 11 - Valores do peso seco da biomassa total para o volume trabalhado, peso seco da biomassa em mg e lipídios totais em mg L⁻¹ e (%) para os experimentos realizados.

Experimento	Peso seco biomassa total (mg)*	Peso seco biomassa (mg)**	Teor de óleo	
			Lipídios totais (mg)**	(%)
Experimento s/ aporte de CO ₂ 1ª repetição	5550,00	185,00	34,32	18,55
Experimento s/ aporte de CO ₂ 2ª repetição	5310,00	177,00	33,47	18,91
Experimento c/ aporte de CO ₂ 1ª repetição	73060,00	2435,33	287,33	11,80
Experimento c/ aporte de CO ₂ 2ª repetição	11300,00	377,00	45,99	12,20

*Para 30L de efluente; ** Para 1L de efluente.

Pode ser observado que no período de sete dias de cultivo de *D. subspicatus* apresentou maior teor e óleo no experimento sem o aporte de CO₂. Entretanto, o peso seco da biomassa no experimento contendo CO₂ suplementar foi maior, em ambas as repetições. Microalgas tendem a armazenar óleo ou amido como reserva energética frente a condições adversas do meio, até que seja possível retomar o crescimento, como estratégia de sobrevivência (AMSLER, 2008; RICHMOND, 2004).

Woertz (2007) trabalhando com efluente semelhante obteve para *Scenedesmus* sp. 0,92 g L⁻¹ em 13 dias de cultivo com um teor de óleo médio de 18,5%. Morais e Costa (2008) trabalhando com aporte de CO₂ encontraram para

Scenedesmus obliquus uma média de 0,86 g L⁻¹ em 20 dias de cultivo. A partir do exposto pode se observar que *D. subspicatus* apresentou, considerando o tempo de cultivo (sete dias) bons resultados de teor de biomassa e de óleo, contudo mais experimentos (repetições) são necessários para melhorar a avaliação do cultivo frente à grande variação da disponibilidade de nutrientes do efluente entre os experimentos.

Quanto ao perfil dos ácidos graxos de *D. subspicatus*, a Figura 33 apresenta a sobreposição dos cromatogramas a partir dos experimentos com e sem aporte de CO₂. A Tabela 12 apresenta os percentuais relativos das áreas de pico dos ácidos graxos encontrados nos acilgliceróis do óleo extraído das microalgas, para os experimentos em efluente, com e sem aporte de CO₂, respectivamente.

TABELA 12 - Proporção relativa (%) dos ésteres de ácidos graxos encontrados para os experimentos em efluente, com e sem aporte de CO₂.

Ácido graxo	Tempo de retenção do pico (min.)	sem CO ₂ (n=6)			com CO ₂ (n=6)		
		média	s±	CV(%)	média	s±	CV(%)
C12:0	9,3	0,17	0,06	33,51	0,08	0,02	30,81
C14:0	16	0,42	0,11	26,02	0,38	0,05	12,53
C16:0	23,9	27,28	2,87	10,53	31,30	2,80	8,94
C16:1	24,9	0,81	0,62	76,65	0,33	0,23	69,32
C18:0	32,1	7,44	1,36	18,22	3,48	3,18	91,41
C18:1 cis	32,8	26,88	3,28	12,22	23,63	3,47	14,67
C18:1 cis (11)	33,1	3,99	0,61	15,37	1,06	0,23	21,44
C18:2	34,7	10,50	1,36	12,91	13,54	0,35	2,58
C18:3	37,2	13,80	2,39	17,34	16,35	2,03	12,44
C20:0	40,1	0,92	0,84	91,00	0,21	0,14	66,83
C20:1	40,7	0,34	0,10	30,21	0,39	0,24	61,40
C22:0	47,6	0,86	0,21	24,12	0,52	0,27	51,76
C24:0	54,6	2,18	0,89	40,70	0,53	0,09	17,22
éster*	-	8,18	6,03	73,69	8,20	2,54	30,95

s± = desvio padrão; CV(%) = Coeficiente de Variação. * soma das áreas dos ésteres presentes, mas não identificados de acordo com o padrão.

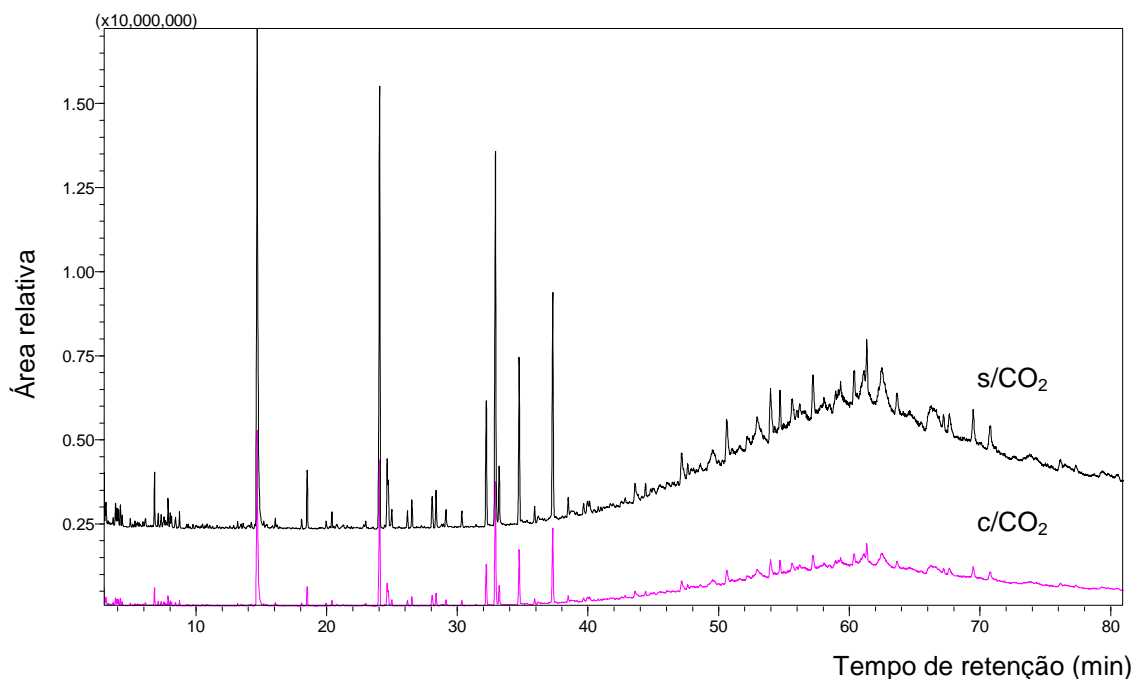


Figura 33: Cromatogramas íon total dos ésteres metílicos referentes aos ácidos graxos presentes no óleo de *D. subspicatus* produzida em efluente com e sem aporte de CO₂.

A Figura 34 apresenta os dados da Tabela 11 em um histograma para visualização das tendências das proporções relativas das áreas de picos amostrais.

Para ambos os experimentos apesar das tendências observadas para os valores de peso seco e teor de óleo, o perfil dos ácidos graxos se apresentou semelhante em termos qualitativos. Isto mostra, num primeiro momento, que fatores ambientais como a qualidade do efluente e a presença de dióxido de carbono suplementar não proporcionaram perfis de ácidos graxos distintos. No entanto, para avaliar o efeito da sazonalidade do efluente na composição dos ácidos graxos do óleo extraído, sugere-se um número maior de repetições dos experimentos para a análise estatística comprovar a diferença significativa ou não entre os perfis observados.

Trabalhando com a mesma espécie, sem acréscimo de CO₂, em condições semelhantes de extração lipídica e cromatografia gasosa, Allard e Templier (2000) encontraram destaque para a presença dos ácidos C16:0 (ácido palmítico) e C18:1 (ácido oleico). O teor de óleo extraído foi em média de 20%.

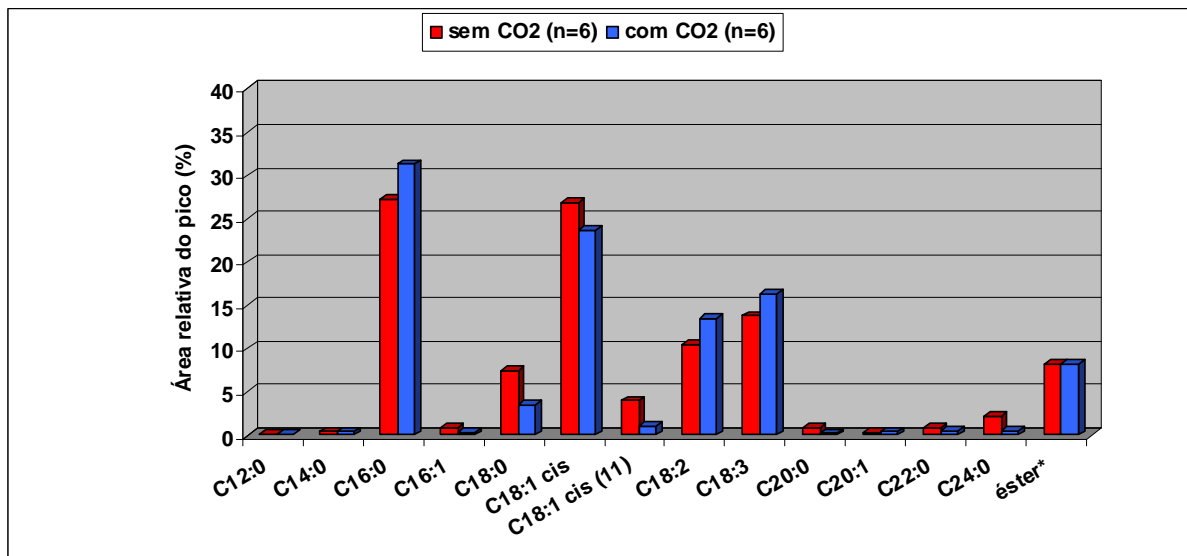


Figura 34: Histograma para visualização das tendências das proporções relativas das áreas de picos amostrais.

Lipídios e ácidos graxos tem como função principalmente a constituição de membranas e reserva energética celular. A maior parte dos lipídios apolares em microalgas são os triacilgliceróis e os ácidos graxos livres, enquanto que os polares são essencialmente glicerídeos, fosfolipídios e glicolipídios.

O teor de lipídios varia de 1 a 40%, e sob certas condições pode ser superior à 85% do peso seco (BECKER, 2004). Ainda, conforme Becker (2004), os lipídios algais são tipicamente compostos por glicerol, açúcares ou bases esterificadas, com o número de carbonos variando entre 12 e 22, podendo ser saturados ou não.

Foi possível observar que *D. subspicatus* apresentou regularidade quanto à distribuição dos ácidos graxos produzidos condições testadas, variando entretanto em quantidade de óleo armazenado com presença de CO₂. Os ácidos graxos encontrados em destaque (Figura 32), assim como o teor de óleo concordam com o trabalho de Allard e Templier (2000) acima citado. O mesmo não se pode dizer quanto ao cultivo com presença de CO₂, pois não foi encontrado até o momento resultados para a mesma espécie em condições semelhantes de cultivo na literatura para comparação.

Considerando que a ETE-UNISC lança mensalmente em média 2.420.000 litros (dois milhões quatrocentos e vinte mil litros) de efluente no corpo d'água receptor, conforme comunicação pessoal do técnico responsável pela ETE-UNISC,

em um regime de batelada com tempo de detenção hidráulica de sete dias no fotobiorreator e nas condições de aclimação propostas (em sala de cultivo, não em campo), haveria a necessidade de um volume de trabalho de 605.000 litros (seiscentos e cinco mil litros) de cultivo de microalga por semana em média. Isto resultaria em aproximadamente 1470 Kg (mil quatrocentos e setenta quilos) de biomassa por semana.

Sendo que a espécie apresentou uma média de 166,66 mg L⁻¹ no cultivo com aporte de CO₂, semanalmente seria possível teoricamente obter algo em torno de 100,43 Kg (cem quilos quatrocentos e trinta gramas) de óleo de *D. subspicatus*.

Para o aproveitamento deste óleo para produção de biodiesel ainda seria necessário aumentar a produção para que fosse viável o investimento, por outro lado, os 1470 kg de biomassa pode ser um caminho para a produção de etanol.

Algumas espécies dos gêneros *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* e *Spirulina*, contém cerca de 50% do peso seco da biomassa formado por amido e glicogênio, matéria prima utilizada comumente para a produção de etanol (UEDA et al. 1996). No caso da biomassa microalgal, é sabido a existência de carboidratos complexos na parede celular e estes devem ser convertidos em açúcares simples, para possibilitar a ação de microrganismos como leveduras e se chegar à produção de bioetanol (HU et al. 1998; HARUN, 2011). Nguyen et al. 2009 relatam a obtenção de 58% de glucose obtida e em média 29% do peso seco convertido em etanol com a espécie *Chlamydomonas reinhardtii*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho mostraram a possibilidade e evolução do uso de microalgas, em especial *Desmodesmus subspicatus* no cultivo em efluente da ETE-UNISC, com concomitante fixação de dióxido de carbono para a produção de biomassa. Diante disso:

- Foi possível o desenvolvimento de um fotobiorreator tubular do tipo coluna de bolhas em regime semicontínuo de gases, para a produção de biomassa de *Desmodesmus subspicatus*.
- O cultivo de *D. subspicatus* no fotobiorreator proposto foi possível mediante inoculação em efluente da ETE-UNISC com aporte de CO₂.
- O desenvolvimento da espécie de microalga no cultivo em fotobiorreator tubular com e sem aporte de CO₂ foi comparado mediante curvas de crescimento e peso seco da biomassa. Nesse caso, para o cultivo de *D. subspicatus* sem aporte de dióxido de carbono, a densidade celular máxima obtida foi de $8,49 \times 10^6$ células mL⁻¹, atingida no terceiro dia de cultivo. Já para o cultivo com suplemento de CO₂ a DCM foi de $25,98 \times 10^6$ células mL⁻¹ atingida no sétimo dia de cultivo. Para o peso seco da biomassa, o cultivo sem aporte de CO₂ em efluente obteve um máximo de 185,00 mg L⁻¹, e o cultivo com aporte de CO₂ obteve um máximo de 2435,33 mg L⁻¹.
- Foi possível a caracterização analítica do meio de cultivo (efluente da ETE-UNISC) quanto aos parâmetros físico-químicos de qualidade do efluente, antes e após o cultivo no fotobiorreator tubular, bem como foi analisada a fixação de nutrientes pela biomassa de microalgas em comparação com os limites estabelecidos pela legislação vigente. Contudo, apesar de haver crescimento, os valores finais dos parâmetros sugerem um aprimoramento futuro do trabalho visando otimizar a questão da biorremediação e o polimento do efluente utilizado como meio de cultivo.
- A comparação do perfil de ácidos graxos e o potencial oleaginoso de *D. subspicatus* cultivada em fotobiorreator tubular, com e sem aporte de CO₂ foi

realizada mediante Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas. Para ambos os experimentos o perfil dos ácidos graxos se apresentou semelhante em termos qualitativos. A qualidade do efluente e a presença de dióxido de carbono suplementar não proporcionaram, a princípio, perfis de ácidos graxos distintos. Houve destaque para a presença dos ácidos C16:0 (ácido palmítico) e C18:1 (ácido oleico). O teor de óleo extraído foi em média de 18 e 12% para o cultivo com e sem aporte de CO₂ respectivamente.

- Semanalmente seria possível teoricamente obter algo em torno de 100,43 Kg (cem quilos quatrocentos e trinta gramas) de lipídios totais (óleo) de *D. subspicatus*, para a produção de energia como o Biodiesel.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

No que diz respeito ao fotobiorreator desenvolvido:

- Aprimorar o sistema de agitação entre os tubos e dentro do reservatório para diminuir a possibilidade de deposição e morte celular.
- Avaliar a possibilidade do uso de luz adicional no reservatório.
- Usar sensores eletroquímicos para medir com precisão as taxas de assimilação de dióxido de carbono.
- Testar o equipamento em campo para analisar o comportamento biológico da espécie em condições ambientais sem o controle artificial.
- Avaliar a possibilidade do uso da luz solar durante o dia e outras fontes de luz como diodos (LED's) à noite para o cultivo com vistas à economia energética.
- Utilizar rotâmetros para medir também microvazão de gases.

Em relação ao cultivo da microalga:

- Melhorar o sistema de floculação para extração da biomassa, verificando, por exemplo, a utilização de eletroflotação.
- Testar o cultivo em efluentes de outra natureza.
- Avaliar o potencial de outras espécies coletadas se possível no próprio efluente estudado.
- Avaliar outras espécies quanto ao cultivo utilizando diferentes gases de exaustão com potencial estufa.
- Considerar a possibilidade de estudos com diatomáceas termofílicas cultivadas em fotobiorreator como painel solar.

Quanto à obtenção de energia:

- Obter biodiesel mediante catálise do óleo de *D. subspicatis*.
- Realizar os testes com o biodiesel obtido quanto aos parâmetros de qualidade estipulados pela Agência Nacional de Petróleo (ANP).
- Realizar uma Análise de Ciclo de Vida do processo produtivo para estudo da sustentabilidade econômica e ambiental do sistema.

8 REFERÊNCIAS

ABALDE, J. et al. *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. 1995. 210f. Monografias, Universidade da Coruña, España, 1995.

ABELIOVICH A. *Water Pollution and Bioremediation by Microalgae Water Purification: Algae in Wastewater Oxidation Ponds*. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

ALLARD, B.; TEMPLIER, J. *Comparison of neutral lipid profile of various trilaminar outer cell wall (TLS)-containing microalgae with emphasis on algaenan occurrence*. *Phytochemistry*. v. 54, p. 369-380.2000.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices of the AOCS*. 5. ed. Champaign: American Oil Chemists' Society. Não paginado. 2005.

ALGAEBASE. 1996-2011. Disponível em: <<http://www.algaebase.org>>. Acesso em: 07 fev. 2011.

AMIN S. *Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae*. *Energy Conversion and Management*. v. 50, p. 1834–1840. 2009.

AMSLER, Charles D. *Algal Chemical Ecology*. Springer, Brimingham. 2008. 322 p.

ANDERSEN, R. *Algal culturing techniques*. Elsevier academic press. 2005.

ANDERSON, G. A.; KOMMAREDDY, A.; SCHIPULL, M. A. *Photobioreactor Design*. Written for presentation at the 2002 ASAE/CSAE North-Central Intersectional Meeting. Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 2002.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21. ed. Washington. 2005.

ARREDONDO-VEGA, B. O. *Crecimiento autotrófico y mixotrófico de la Microalga marina Porphyridium cruentum*. 1995. 138 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Facultad de Farmácia, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 1995.

ASLAN, S.; KAPDAN, I. K. *Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from*

synthetic wastewater by algae. Ecological Engineering. v. 8, p. 64–70. 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – NBR 9896/1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT – NBR 12648/2005.

BALECH, E. *Introducción al Fitoplancton Marino*. Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires, 212 p. 1977.

BECKER, E. W. *Biotechnology and Microbiology*. Cambridge University Press, 301p. 1994.

BECKER, W. *Microalgae in Human and Animal Nutrition*. In: In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

BELARBI E-H, MOLINA GRIMA E, CHISTI Y. *A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil*. Enzyme Microb Technol *Microalgae biofixation processes: applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options*. v. 26, p. 516–29. 2000.

BELAY, A.; OTA, Y.; MIYAKAWA, K.; SHIMAMATSU, H. *Current knowledge on potential health benefits of Spirulina*. J. Appl. Phycol., v. 5, p. 235–41. 1993.

BENEMANN, J.R. *The future of microalgae biotechnology*. In: *Algal Biotechnology* (eds R.C. Cresswell, T.A.V. Rees & N. Shah), p. 317–37. Longman, London. 1990.

BENTLY J.; DERBY R. ETHANOL. FUEL CELLS: *converging paths of opportunity*. Renewable Fuels Association. <http://www.ethanolrfa.org/objects/documents/129/rfa_fuel_cell_white_paper.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2008.

BERENGUEL, M.; RODRIGUEZ, F.; ACIÉN, F.G.; GARCIA, J.L. *Model predictive control of pH in tubular photobioreactors*. Journal of Process Control. n.14. p.377-387, 2004.

BERTOLDI, F.C.; SANT'ANNA, E.; ILVEIRA, J.L.B.; *Revisão: Biotecnologia de microalgas*. B.CEPPA, Curitiba v. 26, n. 1, p. 9-20 jan./jun. 2008.

BICUDO, C.; MENEZES, M. *Gêneros de algas de águas continentais do Brasil*. 2. ed.

p. 502. 2006.

BILANOVIC, D.; ANDARGATCHEW, A.; KROEGER, T.; SHELEF, G. *Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations—response surface methodology analysis*. *Energy Conversion and Management*;50(2): 262–7. 2009.

BJORNSSON, L., MURTO, M., JANTSCH, T.G., MATTIASSON, B. *Evaluation of new methods for the monitoring of alkalinity, dissolved hydrogen and the microbial community in anaerobic digestion*. *Water Research*. v. 35, p. 2833–2840. 2001.

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

BORGES, L.; FARIA, B. M.; ODEBRECHT C.; ABREU, P. C. *Potencial de absorção de carbono por espécies de microalgas usadas na aquicultura: primeiros passos para o desenvolvimento de um “mecanismo de desenvolvimento limpo”*. *Atlântica*, Rio Grande, 29(1): 35-46,. 35.2007.

BOROWITZKA, M.A. *Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters*. *Journal of Biotechnology*. n.70, p.313-321, 1999.

BOROWITZKA, M.A. *Products from microalgae*. *Infotech International*, v. 5, p.21-26. 1993.

BRAGA et al. *Introdução á engenharia ambiental. O desafio do desenvolvimento sustentavel*. 2. ed: Pearson Prentice Hall. Sao Paulo. 318p. 2005.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. *Biodiesel from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* doi:10.1016/j.rser.2009.10.009. (2009).

BROWN, L. M. *Uptake of carbon dioxide from flue gas by microalgae*. *Energy Conversion and Management*, v. 37(6–8), p. 1363–7.1996.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; GARLAND, C. D. *Nutritional aspects of microalgae used in mariculture: a literature review*. Hobart: CSIRO Marine Laboratories (Australia), Report 205, 1989, 44 p.

BRUNO, J. J. *Edible Microalgae: a review of the health research*, Pacifica: Center for Nutritional Psychology, v. 3. p. 56. 2001.

CALLEGARI-JACQUES, S. D. 2003. *Bioestatística. Princípios e Aplicações*. Porto Alegre: Artmed. 255p.

CARTONI, C. R. *Avaliação de catalisadores alcalinos na produção de biodiesel metílico derivado de óleo de soja: análise técnica, econômica e ambiental*. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade Federal de São Paulo. Lorena, 2009.

CCALA. Culture Collection of Autotrophic Organisms. Disponível em: <<http://www.butbn.cas.cz/ccala/index.php?page=sr&cb1=Sphaeropleales>>. Acesso em: 04 fev. 2011.

CERTIK, M.; SHIMIZU, S. *Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production*. Journal of Bioscience and Bioengineering, v.87, n.1, p.1-14. 1999.

CHEVALIER, P.; DE LA NÖUE, J. *Efficiency of immobilized hiperconcentrated algae for ammonium and ortho-phosphate removal from wastewaters*. Biotechnology Letters. n.7 .p.395-400, 1985.

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

CHISTI, Y. *Microalgae: our marine forests*. In: RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science. Biotechnology Advances, 2004. p. 565-567.

CHIU, SHENG-YI; KAO, CHIEN-YA; TSAI, MING-TA; ONG, SEON-CHIN; CHEN, CHIUN-HSUN; LIN, CHIH-SHENG. *Lipid accumulation and CO₂ utilization of Nannochloropsis oculata in response to CO₂ aeration*. Bioresource Technology, v. 100, p. 833-838, 2009.

CHRISTIE, William W. *Gas chromatography and lipids: a practical guide*. Ayr: The Oily Press, 307p. 1992.

COLLETTA, Vanessa Dalla. *Avaliação ecotoxicológica da eficiência da detoxificação do efluente tratado pela estação de tratamento de esgoto da universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil*. Dissertação (Programa de Pós Graduação – Mestrado em Tecnologia Ambiental Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental). Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2008.

COLMAN, B.; ROTATORE, C. *Photosynthetic inorganic carbon uptake and accumulation in two marine diatoms*. *Plant Cell and Environment*, v. 18(8), p. 919–24. 1995.

COSTA NETO, P. L. O. *Estatística*. São Paulo: Edgar Blücher, 264 p. 1977.

COUTTEAU, P. Micro-algae. In: LAVENS, P.; SORGELOOS, P. *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper, n. 361. Rome, FAO. 1996. 295p.

CUARESMA, M.; GARBAYO, I.; VEGA, J.M.; VÍLCHEZ, C. *Growth and photosynthetic utilization of inorganic carbon of the microalga Chlamydomonas acidophila isolated from Tinto river*. *Enzyme and Microbial Technology*. n.40. p.158-162, 2006.

DARLEY, W. M. *Algal Biology: a physical approach*. In: WILKINSON, J. F. *Basic Microbiology*. v. 9, Blackwell Scientific Publications, 1982. p. 30-52.

DE PAUW, N. & PERSOONE, G. *Microalgae for aquaculture*. In: *Micro-algal Biotechnology* (eds M.A. Borowitzka & L.J. Borowitzka), p. 197–221. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 1988.

DERNER, Roberto Bianchini. *Efeito de fontes de carbono no crescimento e na composição bioquímica das microalgas Chaetoceros muelleri e Thalassiosira fluviatilis, com ênfase no teor de ácidos graxos poliinsaturados*. 2006. 158 f. Tese (Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos– Mestrado e Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

DINIS, M. A.; MONTEIRO, A.; BOAVENTURA, R. *Tratamento de águas residuais: o papel das microalgas*. Edições Universidade Fernando Pessoa: Revista da faculdade de ciência e tecnologia. Porto. Issn 1646-0499. 1, p. 41-54. 2004.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LI ´VANSKY ´, K. *Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (Chlorella sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor*. *Journal of*

Applied Phycology, v. 17(5), p. 403–12. 2005.

DOUMIT, C. N.; PINOTTI, M. H. *Exopolissacarídeos de Cianobactérias*. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 25, n. 1, p. 43-52, jan./jun. 2004.

DÖNMEZ, G.; ERTUĞRUL, S.; BAKIR, M. *Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: Phormidium sp. ecological engineering*. v. 3 2. p. 244–248. 2008.

DUBINSKY, Z. *Productivity of algae under natural conditions: algal mass culture and water blooms in nature*. In: RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Mass Culture*. Boca Raton: CRC, 1990. p. 101-116.

DÜPONT, A. *Avaliação da eficiência da estação de tratamento de esgoto da universidade de santa cruz do sul, RS, Brasil*. Dissertação (Programa de Pós-Graduação – Mestrado em Tecnologia Ambiental Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental). 2011. 158 f. Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC. Santa Cruz do Sul. 2011.

DUNSTAN, G. A. et al. *Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture*. Journal of Applied Phycology, n. 5, p. 71-83, 1993.

ELLIOT D. C.; SEALOCK L. J. *Chemical processing in high-pressure aqueous environments: low temperature catalytic gasification*. Trans IChemE;74:563–6. 1999.

EMDADI, D.; BERLAND, B. *Variation in lipid class composition during batch growth of Nannochloropsis salina and Pavlova lutheri*. Marine Chemistry, v. 26, p. 215-225, 1989.

EMMA, H. I.; COLMAN, B.; ESPIE, G. S.; LUBIAN, L. M. *Active transport of CO₂ by three species of marine microalgae*. Journal of Phycology, v. 36(2), p. 314–20. 2000.

EPE (Empresa de Pesquisa Energética). *Balanco Energetico Nacional 2009 – Ano base 2008: Resultados Preliminares*. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <<http://www.epe.gov.br>>. Acesso em: 18/09/2009.

EPPLEY, R.W. *The Growth and Culture of Diatoms: the biology of diatoms*. Botanical Monographs, v.13, Oxford: Blackwell Scientific, 64 p. 1977.

ESTEVES, FRANCISCO DE ASSIS. *Fundamentos de Limnologia*. 2. ed. Rio de

Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

FÁBREGAS, J.; PATINO, J.; MORALES E. D.; CORDERO, B.; OTERO, A. *Optimal renewal rate and nutrient concentration for the production of the marine microalgae Phaeodactylum tricornutum in semicontinuous cultures*. Applied and Environmental Microbiology, v. 62, p. 266-268, 1996.

FALKOWSKI, P. G.; RAVEN, J. A. *Aquatic Photosynthesis*. Blackwater Science, Malden, 375 p., 1997.

FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B. DE; PRADO, J. F.; REZIG, S. H. *Algas, uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica*. Porto Alegre: Artmed, 332p. 2010.

GERIS R.; SANTOS, N. A. C.; AMARAL, B. A.; MAIA, I. S.; DOURADO V. Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica. Quim. Nova, Vol. 30, No. 5, 1369-1373, 2007.

GLADUE, R. M. *Heterotrophic microalgae production: potential for application to aquaculture feeds*. In: FULKS, W.; MAIN, K. *Rotifer and Microalgae Culture Systems*. In: US-ASIA Workshop, 1991, Honolulu. Proceedings. Honolulu, 1991. p. 275-286.

GOLDMAN, J.C. & CARPENTER, E.J. (1974). A kinetic approach to the effect of temperature on algal growth. Limnol. Oceanogr., 19, 756–66. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

GOLDMAN, J.C. *Physiological aspects in algal mass cultures*. In: *Algal Biomass*. p. 343–59, Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press. 1980.

GONZALEZ, L. E.; CANIZARES, R. O.; BAENA, S. *Efficiency of Ammonia and Phosphorus Removal from a Colombian Agroindustrial Wastewater by Microalgae Chlorella vulgaris and Scenedesmus dimorphus*. In: *Bioresource Technology*, v. 60, p. 259-262. 1997.

GOOGLE EARTH versão 5.2.1.1588.

GROBBELAAR, J. U. *Algal Nutrition*. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

GROBBELAAR, J.U. *Algal biotechnology: real opportunities for Africa*. South African Journal of Botany, v.70, n.1, p.140-144. 2004.

GUDIN, C. & CHAUMONT, D. *Cell fragility: the key problem of microalgae mass production in closed photobioreactors*. Bioresour. Technol., v. 38, p. 145–51. 1991.

GUILLARD, R. R. L. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. In: *Culture of Marine Invertebrates Animals*. Plenum Publishing, New York, p. 29-60, 1975.

HARMELEN, VAN T.; OONK H. *Microalgae biofixation processes: applications and potential contributions to greenhouse gas mitigation options*. Apeldoorn, The Netherlands: International Network on Biofixation of CO₂ and Greenhouse Gas Abatement with Microalgae; 2006.

HARRIS, G.P. *Phytoplankton ecology*. Chapman & Hall, New York. 1988.

HARUN R.; MICHAEL K.D.; GARETH M.F. *Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production*. J Chem Technol Biotechnol. v. 85. p. 199–203. 2010.

HEALEY, F.P. *Phosphate*. In: *The biology of cyanobacteria*. Blackwell Scientific, Oxford, UK. 1982.

HELLENBUST, J. A. *Lighth: plants*. In: KINNE, O. *Marine Ecology. A Comprehensive, Integrated Treatise on Life in Oceans and Coastal Waters*, London: Wiley Interscience, 1970, p.124-158.

HILL, D.T., BOLTE, J.P. *Methane production from low solid concentration liquid swine waste using conventional anaerobic fermentation*. Bioresource Technology. v. 74, p. 241–247. 2000.

HIRANO, A.; HON-NAMI, K.; KUNITO, S.; HADA, M.; OGUSHI, Y. *Temperature effect on continuous gasification of microalgal biomass: theoretical yield of methanol production and its energy balance*. Catalysis Today, v. 45 (1–4), p. 399–404. 1998.

HIROOKA, T.; AKIYAMA, Y.; TSUJI, N.; NAKAMURA, T.; NAGASE, H.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K. *Removal of Hazardous Phenols by Microalgae under Photoautotrophic Conditions*. In: J. Bioscience and Bioeng., v. 95, p. 200-203. 2003.

HODAIFA, GASSAN; MARTINEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S. *Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*. v. 99, p. 1111-1117. 2008.

HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. *Algae: an introduction to phycology*. Cambridge: Cambridge University, 623 p. 1995.

HOFFMANN, JAMES P. *Wastewater treatment with suspend and nonsuspend algae*. *Journal of Phycology*, n.34, p.757-763. 1998.

HSUEH, H. T.; CHU, H; YU, S. T. *A batch study on the bio-fixation of carbon dioxide in the absorbed solution from a chemical wet scrubber by hot spring and marine algae*. *Chemosphere*. v. 66 (5) p.878–86. 2007.

HU Q.; KURANO N.; KAWACHI M.; IWASAKI I.; MIYACHI S. *Ultrahigh-cell-density culture of a marine green alga Chlorococcum littorale in a flat-plate photobioreactor*. *Appl Microbiol Biotechnol*. v. 49. p. 655–62. 1998.

HU, Q. *Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species: Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 264-272.

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

JENKINS, D.; HERMANOWICZ, S. W. *Principles of chemical phosphate removal*. In: *Phosphorus and nitrogen removal from municipal wastewater – Principles and Practice*. 2nd ed. New York: Lewis Publishers, 1991.

JERÔNIMO, V. L. *Uso de nitrato como receptor de elétrons no tratamento de esgoto sanitário em reator anóxico*. 1998. Dissertação de Mestrado (Engenharia) – Universidade de Sao Paulo, Sao Paulo, 1998.

KAYA, V. M.; PICARD, G. *Stability of chitosan gel as entrapment matrix of viable Scenedesmus bicellularis cells immobilized on screens for tertiary treatment of wastewater*. *Bioresource Technology*. v. 56, p. 147-155. 1996.

KEFFER, J.E.; KLEINHEINZ, G.T. *Use of Chlorella vulgaris for CO₂ mitigation in a photobioreactor*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology v.29, p. 275 – 280. 2002.

KHALIL, C. N. *As tecnologias de produção de biodiesel. O Futuro da Indústria: Biodiesel*. Coletânea de artigos. Série Política Industrial, Tecnológica e de Comércio Exterior. Brasília, 2006.

KIM, J.; LINGARAJU, B. P.; RHEAUME, R.; LEE, J. Y.; SIDDIQUI, K. *Removal of Ammonia from Wastewater Effluent by Chlorella Vulgaris*. TSINGHUA SCIENCE AND TECHNOLOGY. ISSN 1007-0214 04/16 pp391-396.v. 15, n. 4. 2010.

KIRK, E. A.; BEHRENS, P. W. *Commercial developments in microalgal Biotechnology*. Journal of Phycology n. 35, p. 215–226. 1999.

LALIBERTE, G.; PROULX, D.; DE PAUW. N.; DE LA NÖUE, J. *Phycological Perspectives in Water Pollution*. New York. Springer-Verlag, 1992.

LALLI, C.; PARSONS, T. 1993. *Biological Oceanography: an Introduction*. Oxford, Butterworth & Heinemann Ltd. 301 p.

LAU, P.S.; TAM, N. F.Y.; WONG, Y. S. *Carrageenan as a Matrix for Immobilizing Microalgae Cells, for Wastewater Nutrients Removal*. In: Wong, Y. S. Tam, N. F. Y. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, v. 9, p. 145-163. 1998.

LEE, R. E. *Phycology*. 2. ed. Cambridge University Press, 645 p. 1989.

LEMAN, J. *Oleaginous microorganisms: an assessment of the potencial*. Advances in Applied Microbiology, v. 51, p. 195-243. 1997.

LIMA, S. A. C.; RAPOSO, M. F. J.; CASTRO, P. M. L.; MORAIS, R. M. *Biodegradation of *p*-Chlorophenol by a Microalgae Consortium*. In: Water Research, v. 38, p. 97-102. 2004.

LOBO, E.A.; CALLEGARO, V. L. M.; HERMANY, G.; BES, D.; WETZEL, C. E.; OLIVEIRA, M. A. *Use of epilithic diatoms as bioindicator from lotic systems in southern Brazil, with special emphasis on eutrophication*. Acta Limnologica Brasiliensia, v. 16(1), p. 25-40, 2004.

LOBO, E. A.; CALLEGARO, V. L. M. ; BENDER, E. P. *Utilização de algas diatomáceas epilíticas como indicadores da qualidade da água em rios e arroios da Região Hidrográfica do Guaíba, RS, Brasil*. 1. ed. Santa Cruz do Sul: Edunisc, 127 p. 2002.

LOPES, E. J. *Seqüestro de dióxido de carbono em fotobiorreatores*. 2007. Tese (Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química-Mestrado e Doutorado) – Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

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

LOURENÇO, S. O. *Variação da Composição Bioquímica de Microalgas Marinhas em Cultivos com Ênfase nos Efeitos da Disponibilidade do Elemento Nitrogênio*. 1996. 164 f.. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

LOURENÇO, S. O.; BARBARINO, E.; LAVÍN, P. L.; MARQUEZ, U. M. L.; AIDAR, E. *Distribution of intracellular nitrogen in microalgae. Calculation of new nitrogen-to-protein conversion factors*. European Journal of Phycology, v. 39, p. 17-32, 2004.

LOURENÇO, S. O.; MARQUES Jr, A. N. *Produção primária marinha*. In: PEREIRA, R. G.; SOARES-GOMES, A. (orgs.) *Biologia Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência, p. 195-227. 2002.

MARTÍNEZ, M.E.; SÁNCHEZ, S.; JIMÉNEZ, J. M.; YOUSFI, F.; MUÑOZ, L. *Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewaters by the microalga Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology n.73. p. 263-272. 2000.

MASOJÍDEK, J.; KOBLÍZE K, M.; TORZILLO, G. *Photosynthesis in microalgae*. In: RICHMOND, A. *Handbook of Microalgal Culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 20-39.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. *Microalgae for biodiesel production and other applications: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 14, p. 217-232, 2009.

MENDES, P. P. *Estatística Aplicada à Aqüicultura*. Recife: Bagaços, 1999. 265 p.

MERCHUK, J.C.; WU, X. *Simulation of algae growth in a bench scale internal loop*

airlift reactor. Chemical Engineering Science. n. 59. p. 2899–2912, 2004.

METTING, B.; PYNE, J.W. *Biologically active compounds from microalgae*. Enzyme Microb. Technol., v. 8, p. 385–94. 1986.

MIAO X.; WU Q. *Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil*. Bioresource Technology n. 97, p. 841–846. 2006.

MIAO X.; WU Q.; YANG C. *Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels*. J Anal Appl Pyrolysis; v. 71, p. 855–63. 2004.

MICROSOFT® Office Excel 2003 (v.11.5612.5606).

MINOWA T.; SAWAYAMA S. *A novel microalgal system for energy production with nitrogen cycling*. Fuel; v. 7, p. 1213–5. 1999

MOLINA GRIMA, E.; FERNANDÉZ, F.G.A.; CAMACHO, F.G.; CHISTI, Y. *Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scale up*. Journal of Biotechnology. n. 70. p. 231-247, 1999.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. *Bioprocessos para remoção de dióxido de carbono e óxido de nitrogênio por microalgas visando a utilização de gases gerados durante a combustão do carvão*. Quim. Nova, v.31, n. 5, p.1038-1042. 2008.

MULBRY, WALTER; KONDRAD, SHANNON; PIZARRO, CAROLINA; KEBEDE-WESTHEAD ELIZABETH. *Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turt scrubbers*. Bioresource Technology. v. 99, p. 8137–8142. 2008.

MUÑOZ, R.T. *Algal-bacterial photobioreactors for the degradation of toxic organic pollutants*. Doctoral Dissertation. Lund University, Sweden, 2005.

MURATA, N. *Low-temperature effects on cyanobacterial membranes*. J. Bio-energ. Biomembr, v. 21, p. 61–75. 1989.

NATURAL HISTORU MUSEUM. Disponível em: <<http://www.nhm.ac.uk/>>. Acesso em: 07 fev. 2011.

NGUYEN M.T.; CHOI S.P.; LEE J.; LEE J.H.; SIM, S.J. *Hydrothermal acid pretreatment of Chlamydomonas reinhardtii biomass for ethanol production*. J Microbiol Biotechnol. v. 19. p.161– 6. 2009.

NISHIDA, I. & MURATA, N. *Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids*. Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol., v. 47, p. 541–68. 1996.

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

NURDOGAN, Y.; OSWALD, W.J. *Enhanced nutrient removal in high rate ponds*. Water Science Technology. n. 31. p. 31-43, 1995.

OLIVEIRA, S.M.; SPERLING, M. V. *Avaliação de 166 ETEs em operação no país, compreendendo diversas tecnologias. Parte I – análise de desempenho*. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.10, n.4, p. 347-357,2005.

OLIVERA, A. *Crescimento das diatomáceas bacillariophyceae Chaetoceros sp., Skeletonema costatum e Thalassiosira fluviatilis em diferentes meios de cultivo e em condições controladas de temperatura e salinidade*. 1993. 204 f.. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura) - Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1993.

ONO, E.; CUELLO, J.L. *Carbon dioxide mitigation using thermophilic cyanobacteria*. Biosystems Engineering. n.96. p.129-134, 2007.

ORIGIN (version 8.0). *Data analysis and graphing software*. ORIGIN LAB. 2010.

OSWALD, W.J. *Micro-algae and wastewater treatment*. In: Borowitzka, M. & Borowitzka, L. Micro-algal Biotechnology. 2. ed., Sydney, 477 pp., 1988.

OSWALD, W.J.; GOTAAS, H.B. *Photosynthesis in sewage treatment*. Trans. Am. Soc. Civ. Eng. v. 122, p. 73-105. 1957.

OTERO, A.; DOMÍNGUEZ, A.; LAMELA, T.; GARCIA, D.; FÁBREGAS, J. *Steady-states semicontinuous cultures of a marine diatom: Effect of saturating nutrient concentrations*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, v. 227, p. 23-34, 1998.

OWENDE, P.; BRENNAN, L.; *Biodiesel from microalgae – A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Renewable and Sustainable Energy Reviews (2009), doi:10.1016/j.rser.2009.10.009.

PARENTE, E. J. S. *Biodiesel: Uma Aventura Tecnológica num Pais engraçado*. Fortaleza, Ceará, 2003.

PARK, J.; JIN, H.F.; RAN, B.; LEE, K. *Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga Scenedesmus sp.* Bioresource Technology 2010.

PAST. (v.1.81). Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp.

PEÑA-CASTRO, J. M.; MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F.; ESPARZA-GARCÍA, F.; CAÑIZARESVILLANUEVA, R.O. *Heavy metals removal by the microalga Scenedesmus incrassulatus in continuous cultures*. Bioresource Technology. v.94. p. 219-222, 2004.

PIZARRO C.; KEBEDE-WESTHEAD, E.; MULBRY, W. *Nitrogen and phosphorus removal rates using small algal turfs grown with dairy manure*. Journal of Applied Phycology, n.14, p. 469–473. 2002.

POHLING, ROLF. *Reações químicas na análise de água*. Fortaleza: Marco. 2009. 334p.

PROULX, D.; DE LA NÔUE, J. *Removal of macronutrients from wastewater by immobilized algae*. *Bioreactor Immobilized Enzymes and Cells: Fundamentals and Applications*. (Moo-Young, M., Ed.). Elsevier Applied Science, London, 301-310. 1988.

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

QIN J. *Bio-hydrocarbons from algae—impacts of temperature, light and salinity on algae growth*. Barton, Australia: Rural Industries Research and Development Corporation; 2005.

RACAULT, Y.; BOUTIN, C. *Waste stabilization ponds in France: state of the art and recent trends*. Water Science Technology. n. 12. p. 1-9, 2005.

RADMANN, E. M.; COSTA, J. A. V. *Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO₂, SO₂ e NO*. Quim. Nova, v. 31, n. 7, p. 1609-1612. 2008.

RAMACHANDRA T. V.; DURGA M. M.; KARTHICK B. *Milking Diatoms for Sustainable Energy: Biochemical Engineering versus Gasoline-Secreting Diatom Solar Panels*. Ind. Eng. Chem. Res., n.48, p.8769–8788. 2009.

RAVEN, J. A. *Limits to growth*. In: BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. *Microalgal Biotechnology*, Cambridge: Cambridge University, p. 331-356. 1988.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 906 p. 2001.

REDFIELD, A.C., *The biological control of chemical factors in the environment*. *American Scientist*, 1958.

REIREZ, M. J. F.; CAMACHO, A. P.; FERREIRO, M. J. BLANCO, J.; PLANAS, M.; CAMPOS, M. J.; LABARTA, U. *Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae*. *Aquaculture*, v. 83, p. 17-37, 1989.

RHEE, G.Y. *Effects of environmental factors and their interactions on phyto-plankton growth*. *Adv. Microb. Ecol.*, v. 6, p. 33–74. 1982.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

RIO GRANDE DO SUL. *Resolução Conselho Estadual do Meio Ambiente nº 128, de 24 de novembro de 2006*. Secretaria do Meio Ambiente. Conselho Estadual do Meio Ambiente. 2006a.

ROBINSON, P. K. *Immobilized algal technology for wastewater treatment purposes*. In: Wong, Y.S. Tam, N. F.Y. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, p. 1-16. 1998.

ROSENBERG J. N.; OYLER, G. A.; WILKINSON, L.; BETENBAUGH M. J. *A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution*.

Current Opinion in Biotechnology, n.19, p. 430–436. 2008.

RUBIO, F. C.; CAMACHO, F. G.; SEVILLA, J. M. F.; CHISTI, Y.; GRIMA, E. M. *A mechanistic model of photosynthesis in microalgae*. Biotechnology and Bioengineering, v.81, p. 459-473. 2003.

SÁNCHEZ-SAAVEDRA, M. P.; VOLTOLINA, D. *The chemical composition of Chaetoceros sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions*. Comparative Biochemistry and Physiology, v. 107b, n. 1, p. 39-44, 1994.

SAWAYAMA S.; INOUE S.; DOTE Y.; YOKOYAMA S. *CO₂ fixation and oil production through microalga*. Energy Convers Manage; 36(6–9):729–31. 1995

SCHENK PEER M.; SKYE R.; HALL T.; STEPHENS E.; MARX U.C.; MUSSGNUMG J. H.; POSTEN C.; KRUSE O.; HANKAMER B. *Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production*. Bioenerg. Res., p. 24. 2008.

SHEEHAN, J. et al. *A Look Back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program: biodiesel from algae*. US Department of Energy's, Office of Fuels development. NREL/TP-580-24190. 328 p. 1998.

SOARES, Diniara. *Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo*. 2010. 107 f. Tese (Curso de Pós-Graduação em Ciências: Bioquímica – Mestrado e Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SOEDER, C. J.; BINSACK. R. *Microalgae ,for Food and Feed* (Seeder, C. J. and Binsack, R., Eds.) E. Schweizerbart'sche Verlasbuchhandlung, Stuttgart, 1978.

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

SOUZA, J. T. et. al. *Utilização de wetland construído no pós-tratamento de esgotos domésticos pré-tratados em reator UASB*. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.9, n.4, p. 285-290, out-dez, 2004.

SPERLING, M. V. *Introdução á qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais. 243 pg. 1996.

SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. *Commercial applications of microalgae*. Journal of Bioscience and Bioengineering, v. 101, p.87-96, 2006.

STEIN, J. R. *Handbook of Phycological Methods: culture methods and growth measurements*. Cambridge: Cambridge University, 448 p. 1973.

SUBRAMANIAN, G.; THAJUDDIN, N. *Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology*. Current Science. v.89. n.1. p.47-57, 2005.

SUH, I. S.; LEE, C.G. *Photobioreactor Engineering: Design and Performance*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, v. 8, p. 313-321, 2003.

TALBOT, P.; DE LA NÖUE. J. *Algal Biotechnology* (Staedler, T., Mollion. J., Verdus, M. C., Karamanos, Y., Morvan, H., and Christiaen, D., Eds.). Elsevier, London, 1988.

TAM, N. F. Y.; WONG, Y. S.; SIMPSON, C. G. *Removal of Copper and Immobilized Microalga, Chlorella Vulgaris*. In: Wong, Y. S. e Tam, N.F.Y. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag, v. 2, p. 17-36. 1998.

TAVARES, S.; ROCHA, O. *Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos*. Rima, São Carlos. 106 p. 2003.

TEIXEIRA, C. M., MORALES, M. E. *Microalga como matéria-prima para a produção de biodiesel*. In: I congresso da rede brasileira de tecnologia do biodiesel, 2006, Brasília. Anais... Brasília: Hotel Mercure.

TEIXEIRA, V. L. *Produtos naturais marinhos*. In: PEREIRA, R. G.; SOARES-GOMES, A. (orgs.) *Biologia Marinha*. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. p. 249-279.

THOMPSON, JR. G. A. *Lipids and membrane function in green algae*. Biochem. Biophys. Acta, v. 1302, p.17-45. 1996.

THOMPSON, P.A.; GUO, M.; HARRISON P.J. *Effects of temperature on the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton*. J. Phycol., v.28, p. 481-88. 1992.

TOMASELLI, L. *The microalgal cell*. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal*

culture: biotechnology and applied phycology. Oxford: Blackwell Science, 2004.

TRAINOR, F.R. *Algae as Ecological Indicators*; Shubert, L. E.; Academic Press: UK, 1983.

TREDICI, M. R. *Mass production of Microalgae: Photobioreactors*. In: RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, 2004.

TSUKAHARA K.; SAWAYAMA S. *Liquid fuel production using microalgae*. Jpn Petrol Inst; 48(5):251–9. 2005

TWIST, H.; EDWARDS, A. C.; COD, G. A. *Algal Growth responses to waters of Contrasting Tributaries of the River Dee, North-East Scotland*. In: Water Research, v. 32, p. 2471-2479. 1998.

TWIST, H.; EDWARDS, A. C.; CODD, G. A. *A novel in-situ biomonitor using alginate immobilized algae (*Scenedesmus subspicatus*) for the assessment of eutrophication in flowing surface waters*. In: Water Research, v. 31, p. 2066-2072. 1997.

TZOVENIS, I.; DE PAUW, N; SORGELOOS, P. *Optimisation of T-ISO biomassproduction rich in essential fatty acids. II. Effect of different light regimes on the production of fatty acids*. Aquaculture, v. 216, p. 223-242, 2003.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. *Photobioreactors for mass cultivation of algae*. Bioresource Technology, v. 99, p. 4021-4028, 2007.

UMBLE, A. K.; KETCHUM, L. H. Jr. *A strategy for coupling municipal wastewater treatment using the sequencing batch reactor with effluent nutrient recovery through aquaculture*. Wat. Sci. Tech., v. 35, n. 1, p. 177 – 184. 1997.

VAN HAANDEL, A.; MARAIS, G. *O Comportamento do Sistema de Lodo Ativado*. Campina Grande, 1999. 488p.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. *Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica*. Quim. Nova, v. 27, n. 1, 139-145, 2004.

VÍLCHEZ, C. et al. *Microalgae-mediated chemicals production and wastes removal*. n.

20, p. 562-572. 1997.

VOLTOLINA, D.; CORDERO, B.; NIEVESC, M.; SOTOC, L. P. *Growth of Scenedesmus sp. in artificial wastewater*. Bioresource Technology. v. 68, p. 265-268. 1998.

VONSHAK, A. *Laboratory techniques for the cultivation of microalgae*. In: RICHMOND, A. *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*. Boca Raton: CRC, p. 117-145. 1990.

VONSHAK, A.; ABELIOVICH, A.; BOUSSIBA, S.; ARAD, S.; RICHMOND, A. *Production of Spirulina biomass: effects of environmental factors and population density*. Biomass, v. 2, p. 175-185, 1982.

VUNJAK-NOVAKOVIC, G.; KIM, Y.; WU, X.; BERZIN, I.; MERCHHUK, J. C. *Air-lift bioreactors for algal growth on flue gas: mathematical modeling and pilot-plant studies*. Industrial & Engineering Chemistry Research; 44(16):6154–63. 2005.

WANG B.; LI Y.; WU N.; LAN C. *CO₂ bio-mitigation using microalgae*. Applied Microbiology and Biotechnology;79(5):707–18. 2008.

WIKFORS, G. H. *Altering growth and gross chemical composition of two microalgal molluscan food species by varying nitrate and phosphate*. Aquaculture, v. 59, p. 1-14, 1986.

WILLIAMS, P. J. le. B. *Biofuel: microalgae cut the social and ecological costs*. NATURE. v. 450; 2007.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. *High quality biodiesel production from microalgae by heterotrophic growth in fermenters*. Journal of Biotechnology. n.126. p.499–507, 2006.
YAMASAKI, A. *An overview of CO₂ mitigation options for global warming emphasizing CO₂ sequestration options*. Journal of Chemical Engineering Japan v.36, p. 361–375. 2003.

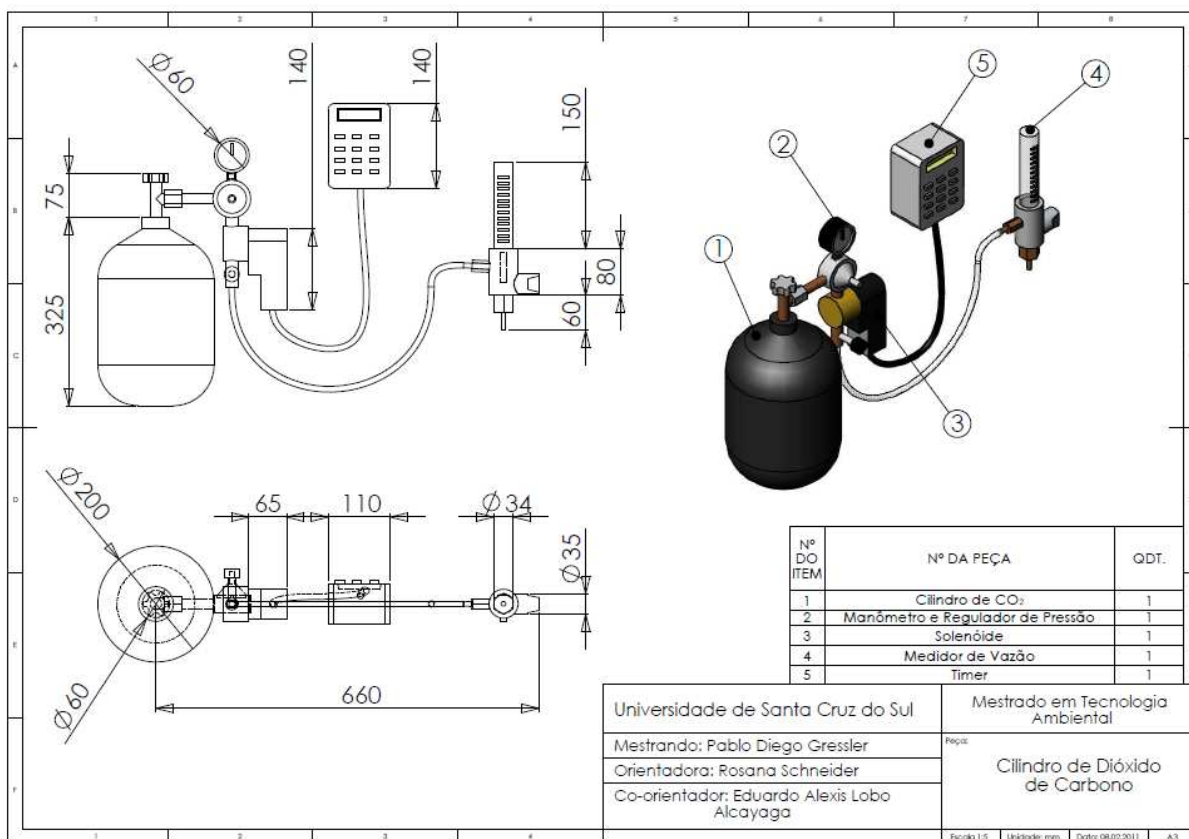
YONGMANITCHAI, W.; WARD, O. P. *Screening of algae for potential alternative sources of eicosapentaenoic acid*. Phytochemistry, v. 30, n. 9, p. 2963-2967, 1991.

ZEPKA, L.Q.; JACOB-LOPES, E.; GOLDBECK, R.; QUEIROZ, M.I. *Production and biochemical profile of the microalgae Aphanotece microscópica Nägelli submitted to different drying conditions*. Chemical Engineering and Processing. 2007.

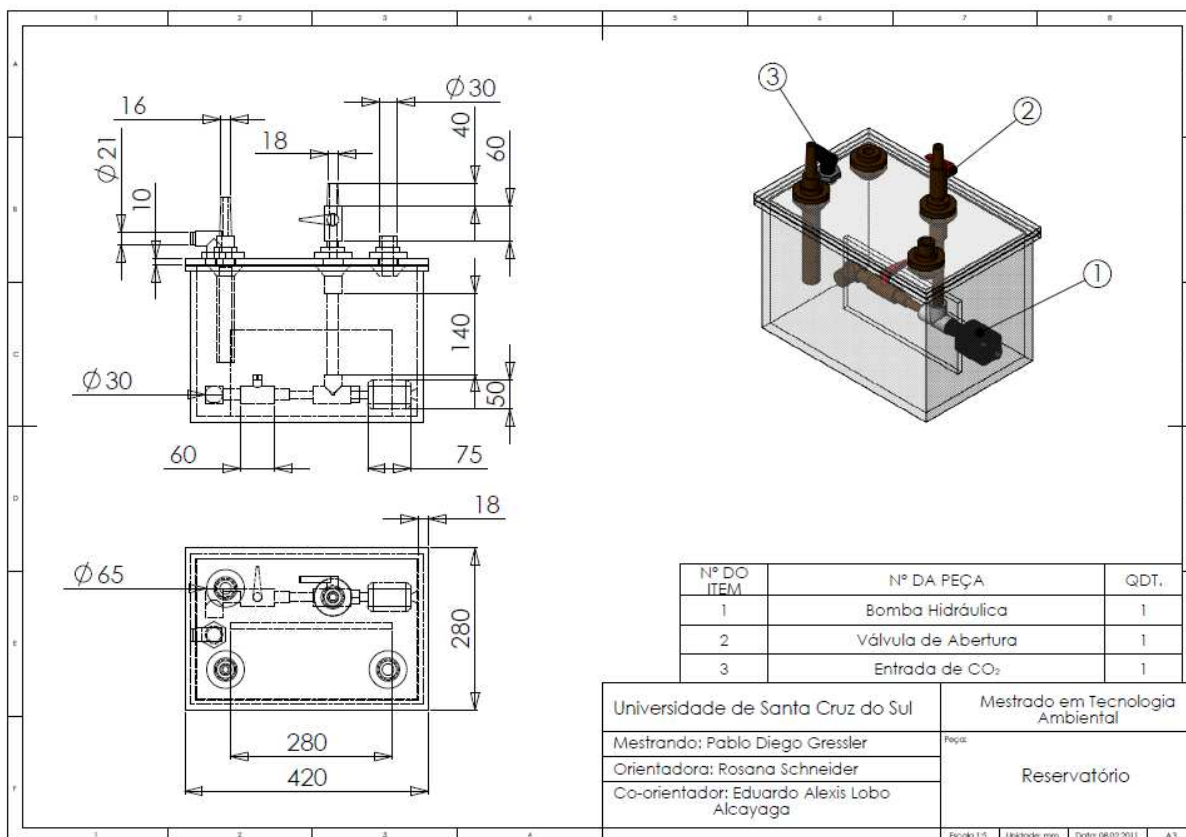
ZHANG, E.; WANG, B.; WANG Q.; ZHANG S.; ZHAO B. *Ammonia–nitrogen and orthophosphate removal by immobilized Scenedesmus sp. isolated from municipal wastewater for potential use in tertiary treatment*. *Bioresource Technology*. v. 99, p. 3787–3793. 2008.

9 ANEXOS

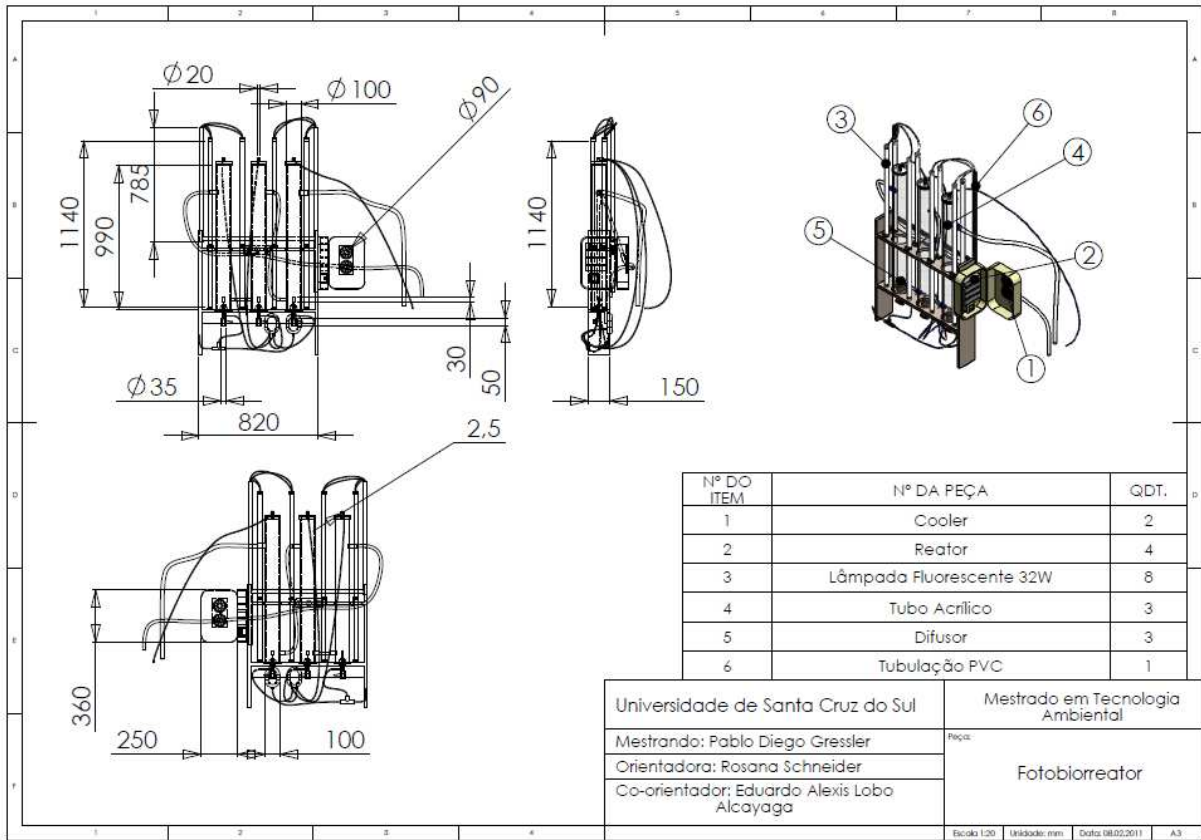
ANEXO A – PLANTA DO SISTEMA DE GÁS DO FOTOBIORREATOR



ANEXO B - PLANTA DO RESERVATÓRIO DO FOTOBIORREATOR



ANEXO C – PLANTA DO SISTEMA DE COLUNAS DO FOTOBIORREATOR



ANEXO D- LAUDO 1 DE ANÁLISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5171/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul

Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -

Contato: ---



AMOSTRA

Tipo: Efluente
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE Unisc - Caixa de Inspeção
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 15/11/2010 16h 00min
Data de entrada no laboratório: 16/11/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	50,5	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	282,8	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	333,3	mg L ⁻¹	-
DBO ₅	20,0	mg L ⁻¹ (O ₂)	-
DQO	114	mg L ⁻¹	-
Fósforo total	10,1	mg L ⁻¹	-
Nitrogênio amoniacal	36,1	mg L ⁻¹	-
Nitrogênio total Kjeldahl	44,5	mg L ⁻¹	-

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro

NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 02 de dezembro de 2010.


Alcido Kirst
Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO E - LAUDO 2 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5266/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -
Contato: --



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE Unisc - Caixa de Inspeção
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 24/11/2010 14h 00min
Data de entrada no laboratório: 24/11/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	60,6	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	446,4	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	507,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	23,8	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	75	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	11,4	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	77,8	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	78,5	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro

NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 07 de dezembro de 2010.


Alcido Kirst
Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO F - LAUDO 3 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5355/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul

Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -

Contato: —



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: Sala 1233 - Pós reator
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 02/12/2010 14h 55min
Data de entrada no laboratório: 02/12/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)	LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	133,8 mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0 mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0 mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	133,8 mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	33,0 mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	283 mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	11,3 mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	54,3 mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	70,7 mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro

NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N^o 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 21 de dezembro de 2010.

Alcido Kirst

Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO G - LAUDO 4 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5452/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -
Contato: —



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE - Caixa de Inspeção
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 09/12/2010 15h 15min
Data de entrada no laboratório: 09/12/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	204,5	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	204,5	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	48,7	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	88	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	10,8	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	73,5	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	76,4	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro
NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 21 de dezembro de 2010.


Alcido Kirst
Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO H - LAUDO 5 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5355/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -
Contato: —



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: Sala 1233 - Pós reator
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 02/12/2010 14h 55min
Data de entrada no laboratório: 02/12/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	133,8	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	133,8	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	33,0	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	283	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	11,3	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	54,3	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	70,7	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro
NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

"Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica."
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 21 de dezembro de 2010.

Alcido Kirst

Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO I - LAUDO 6 DE ANÁLISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 5731/2010-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -
Contato: ---



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: Amostra 01
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE - Pós reator CO2
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 28/12/2010 15h 15min
Data de entrada no laboratório: 28/12/2010

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	194,4	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	194,4	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	56,7	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	323	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	10,0	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	27,3	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	40,3	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:


NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro
NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 10 de janeiro de 2011.


Alcido Kirst

Responsável Técnico - CRQ-V 05100435

ANEXO J - LAUDO 7 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 283/2011-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul

Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -

Contato: —



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE - Caixa de Inspeção
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 19/01/2011 14h 10min
Data de entrada no laboratório: 19/01/2011

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	85,9	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	85,9	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	41,5	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	103	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	3,75	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	19,1	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	22,1	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado

VMP – valor máximo permitido

mg L⁻¹ – miligrama por litro

NMP – número mais provável

UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”

A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 07 de fevereiro de 2011.


Plínio Luiz Kroth
Responsável Técnico - CRQ-V 05201055

ANEXO K - LAUDO 8 DE ANALISE DO EFLUENTE



LAUDO DE ANÁLISE
REGISTRO 379/2011-0
Página 1 de 1

CLIENTE

Emprego de Microalgas para Fixação de Dióxido de Carbono, Fitorremediação e Produção de Bioenergia em uma Estação de Tratamento de Efluente Urbano

Avenida Independência, 2293 – Santa Cruz do Sul – Rio Grande do Sul
Telefone: 51 3717-7515 / Fax: -
Contato: —



AMOSTRA

Tipo: Efluente tratado
Identificação: -
Local: Av. Independência, 2293 - Santa Cruz do Sul
Ponto de coleta: ETE - Pós reator
Responsável pela coleta: O cliente
Informações adicionais: -
Data e/ou hora da coleta: 26/01/2011 16h 25min
Data de entrada no laboratório: 26/01/2011

ANÁLISE(S)

	RESULTADO(S)		LIMITE(S)
Alcalinidade bicarbonatos	414,1	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade carbonatos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade hidróxidos	0,0	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
Alcalinidade total	414,1	mg L ⁻¹ (CaCO ₃)	-
DBO ₅	42,9	mg L ⁻¹ (O ₂)	Conforme vazão
DQO	114	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Fósforo total	80,0	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio amoniacal	28,6	mg L ⁻¹	Conforme vazão
Nitrogênio total Kjeldahl	28,8	mg L ⁻¹	Conforme vazão

LEGENDAS:

NR – não realizado
VMP – valor máximo permitido
mg L⁻¹ – miligrama por litro

NMP – número mais provável
UFC – unidades formadoras de colônias

REFERÊNCIAS

Resolução N° 128/2006 do Conselho Estadual do Meio Ambiente do RS - CONSEMA, de 24 de novembro de 2006. Consultar esta Resolução sobre os limites estabelecidos para os parâmetros que dependem da vazão do efluente.

“Os resultados apresentados no presente laudo de análise têm significação restrita e se aplicam somente à amostra ensaiada. As informações referentes à amostragem são de responsabilidade do cliente, exceto quando a coleta é realizada pela Central Analítica.”
A reprodução do documento somente poderá ser realizada integralmente, sem nenhuma alteração.

Santa Cruz do Sul (RS), 08 de fevereiro de 2011.

Plínio Luiz Kroth
Responsável Técnico - CRQ-V 05201055