

MARIANA DANIEL TANGO

CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
BENEFICIAMENTO DE CARNES EM FOTOBIOREATOR DO TIPO COLUNA
DE BOLHAS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

T164c
2015

Tango, Mariana Daniel, 1989-
Cultivo de microalgas em efluentes da indústria de
beneficiamento de carnes em fotobiorreator do tipo coluna de
bolhas / Mariana Daniel Tango. – Viçosa, MG, 2015.
xiii, 87f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Maria Lúcia Calijuri.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.75-87.

1. Energia - fontes alternativas. 2. Biocombustível.
3. Microalgas. 4. Resíduos industriais. 5. Carne - Indústria.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Civil. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil.
II. Título.

CDD 22. ed. 333.79

MARIANA DANIEL TANGO

CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTES DA INDÚSTRIA DE
BENEFICIAMENTO DE CARNES EM FOTOBIOREATOR DO TIPO COLUNA
DE BOLHAS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de Março de 2015.



Rejane Helena Ribeiro da Costa



Maria do Carmo Calijuri
Co-orientadora



Maria Lúcia Calijuri
Orientadora

*A toda minha família
e amigos.*

*“E lá se vai
Mais um dia*

*E basta contar compasso
E basta contar consigo
Que a chama não tem pavio
De tudo se faz canção
E o coração na curva
de um rio, rio, rio, rio, rio”*

Milton Nascimento / Lô Borges / Márcio Borges - E lá se vai mais um dia

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Saul e Regina, e à minha irmã Maria Luiza pelo amor, confiança e incentivo, mesmo distantes;

À UFV, escola que propiciou grande parte de minha formação e tem participação importante na pessoa em que me tornei;

À Professora Lúcia pela confiança, orientação, amizade e oportunidade maravilhosa de aprendizado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fomento a essa pesquisa;

A Gerson Barbosa, Adriano Soares e à indústria Pif Paf (Viçosa) pelo apoio e confiança;

À Professora M. Carmo Calijuri e à Adriana C. P. Miwa pela atenção e ajuda com a análise fitoplanctônica;

Aos companheiros do laboratório nPA: Mauro, Gabriel, Fernanda, Matheus, Mateus, André, Sabrina, Taynan, Letícia, Luma, Juliana, Jackeline, Vinicius e Aníbal pela amizade, ajuda de sempre, pelos momentos de descontração e incentivo. Em especial, à Paula P. Assemany e Eduardo A. do Couto, que juntamente com a Prof^a Lúcia, sempre foram os meus maiores exemplos de conduta profissional, determinação e paixão pela pesquisa científica. Aos funcionários do LESA: Priscila, Agostinho, Geraldo, Júlio e Carlos pela ajuda e carinho; À Raimundo Júnior pela ajuda na instalação e automação do sistema de cultivo;

Aos amigos Rose, Raíssa, Paulinha, Franczy, Vivian, Joana e Ygor pelo incentivo, apoio e confiança;

E tantas outras pessoas, que de uma forma ou de outra, contribuíram para o desenvolvimento dessa pesquisa. Sem a participação de cada um, os resultados obtidos nesse trabalho não seriam alcançados. A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESES	3
3. OBJETIVOS	4
3.1. Objetivo geral	4
3.2. Objetivos específicos.....	4
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
4.1. Microalgas para produção de biocombustíveis: uma visão integrada	4
4.2. Sistemas de cultivo.....	9
4.2.1. Fotobiorreatores tubulares	10
4.2.2. Fotobiorreatores em painéis.....	11
4.2.3. Fotobiorreatores de coluna vertical	12
4.3. Cultivo de microalgas em efluentes.....	13
4.3.1. Efluentes agroindustriais derivados do processamento de animais	16
4.3.2. Indústria de laticínios.....	17
4.3.3. Curtume	17
4.3.4. Efluentes do processamento de carne	18
4.4. Fotobiorreatores para a produção de microalgas e tratamento de efluentes	21
4.5. Considerações finais	25
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
5.1. Área de estudo	26
5.2. Unidade experimental.....	27
5.3. Meio de cultivo.....	28
5.3.1. Origem dos efluentes utilizados como meio de cultivo	28
5.3.2. Inóculo.....	29
5.4. Monitoramento do fotobiorreator	30
5.5. Comunidade fitoplanctônica	31

5.5.1. Análise qualitativa	32
5.5.2. Análise quantitativa	32
5.6. Quantificação lipídica	32
5.7. Análise energética	34
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1. Caracterização do Meio de Cultivo	36
6.1.1. Matéria orgânica	37
6.1.2. Nitrogênio	37
6.1.3. Fósforo	38
6.1.4. Relação N/P	39
6.1.5. Sólidos suspensos.....	39
6.1.6. Alcalinidade, pH e temperatura	40
6.2. Composição fitoplanctônica do inóculo	41
6.3. Caracterização das Condições ambientais.....	43
6.4. Controle do pH com adição de CO ₂	46
6.5. Caracterização da biomassa e da comunidade fitoplanctônica	49
6.6. Remoção de poluentes.....	58
6.6.1. Matéria orgânica.....	59
6.6.2. Nitrogênio e fósforo	61
6.7. Quantificação do lipídio acumulado e da produtividade lipídica	66
6.8. Análise energética	69
7. CONCLUSÕES	73
8. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	74
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

- A_f – área do campo de contagem
- Alc – Alcalinidade Total
- ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
- A_t – área total do fundo da câmara de sedimentação
- C – Carbono (elemento)
- CI – Carbono Inorgânico Dissolvido
- C_L – Conteúdo lipídico
- CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- COD – Carbono Orgânico Dissolvido
- C_{OP} – Consumo energético durante uma operação
- C_{org} – número de organismos contados
- CT – Carbono Total Dissolvido
- D – densidade total de organismos
- DBO – Demanda Biológica de oxigênio
- DOC – Dissolved Organic Carbon
- DQO – Demanda Química de Oxigênio total
- DQOf – Demanda Química de Oxigênio para amostra filtrada a 0,45 μm
- E_B – Produção Anual de Energia a partir da Biomassa
- ETE – Estação de Tratamento de Esgoto
- F – número de campos contados
- FAME – ésteres metílicos de ácidos graxos
- FAO/WHO – Food Agriculture Organization / World Health Organization
- FBR – Fotobiorreator
- LAT – Lagoa de Alta Taxa
- LESA – Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental
- m_{bs} – massa da biomassa seca
- m_{rc} – massa do recipiente cheio
- m_{rv} – massa do recipiente vazio
- MS – Meio de cultivo Slösser
- $N\text{-NH}_4^+$ – Nitrogênio Amoniacal
- N – nitrogênio (elemento)
- N/P – Relação entre o nitrogênio prontamente assimilável (amoniacoal + nitrito + nitrato) e o fósforo solúvel

NER – Net Energy Ratio
N-NO₂⁻ – Nitrito
N-NO₃⁻ – Nitrato
N-Norg – Nitrogênio orgânico
N-NTK – Nitrogênio Total Kjeldahl
nPA – Núcleo de Pesquisas Ambientais Avançadas
NT – Nitrogênio Total
OD – Oxigênio Dissolvido
OPR – Operação
P – fósforo (elemento)
PAR – Photosynthetic Active Radiation
P_B – produtividade de biomassa
P_{B,anual} – Produtividade Anual de Biomassa
P_B/E_C – produtividade de biomassa por input energético
pH – Potencial Hidrogeniônico
P_{L,anual} – Produtividade anual de lipídios
PS – fósforo solúvel
PT – fósforo total
Pt - Potência
PVP – polivinilcloro
SS – Sólidos Suspensos
SST – Sólidos Suspensos Totais
SSV - Sólidos Suspensos Voláteis
TDH – Tempo de Detenção Hidráulica
UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFV – Universidade Federal de Viçosa
UV – Ultravioleta
V_{inóculo} – Volume de inóculo adicionado
V_s – volume da amostra sedimentada;
VSS – Volatile Suspended Solids
V_{útil reator} – Volume Útil do Reator
vvm – volume de ar injetado por minuto dividido pelo volume do meio de cultivo
Y_{X/DQO} – Taxa de rendimento do substrato (DQO)
Y_{X/N-NKT} – Taxa de rendimento do substrato (N-NKT)
Y_{X/P-PO₄} – Taxa de rendimento do substrato (P-PO₄)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxo de massa e reciclagem na biorrefinaria de microalgas (ZHU et al., 2014a).....	6
Figura 2. Valor, demanda e tamanho de mercado dos produtos obtidos a partir de microalgas e a demanda de área requerida para a produção dos diferentes itens (adaptado de FRESEWINKEL et al. (2014) e ZHU (2015)).....	7
Figura 3. Diagrama esquemático de (A) FBR coluna de bolhas; (B) FBR <i>airlift</i> com circuito interno; (C) FBR <i>airlift</i> com divisão de coluna e (D) FBR <i>airlift</i> com circuito externo (WANG et al., 2012).	13
Figura 4. Interação dos fatores de maior influência no cultivo externo de microalgas (BECKER, 1994).	15
Figura 5. Fluxograma de uma cadeia produtiva de alimentos e subprodutos derivados de carne bovina, suína ou ovina (adaptada de CARAWAN et al., 1979).....	19
Figura 6. (A) FBR coluna de bolhas. A numeração indica as partes constituintes: (1) tubo de acrílico; (2) sensor de pH; (3) estrutura de madeira para suporte; (4 e 5) fluxômetros; (B) (6) destaque para o dispersor e dimensões de cada tubo.....	28
Figura 7. (A) Reator anaeróbio UASB que precede (B) as LATs na Unidade Experimental Integrada de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Violeira.....	30
Figura 8. Etapas da quantificação lipídica.	33
Figura 9. PAR incidente no FBR medida às 12:00 horas durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	43
Figura 10. Temperatura durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	44
Figura 11. OD durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	45
Figura 12. pH durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	46
Figura 13. Perfil diário do pH durante as operações com o efluente primário (figura superior) e secundário (figura inferior).....	49
Figura 14. Concentrações de SST registradas durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	52
Figura 15. Concentrações de SSV registrados durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	52
Figura 16. Concentrações de clorofila-a durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	54

Figura 17. Coloração do meio de cultivo durante a primeira operação respectivamente após 24 horas (t_1), 120 (t_2) e 168 horas (t_3) de operação.	56
Figura 18. Coloração do meio de cultivo durante a segunda operação respectivamente após 5 horas (t_1), 53 (t_2) e 125 horas (t_3) de operação.	56
Figura 19. Coloração do meio de cultivo durante a terceira operação respectivamente após 5 horas (t_1), 53 (t_2) e 125 horas (t_3) de operação.	56
Figura 20. Coloração do meio de cultivo durante a quarta operação respectivamente após 5 horas (t_1), 77 (t_2) e 173 horas (t_3) de operação.	57
Figura 21. Coloração do meio de cultivo durante a quinta operação respectivamente após 3,5 (t_1), 99,5 (t_2) e 147,5 horas (t_3) de operação.	57
Figura 22. Coloração do meio de cultivo durante a sexta operação respectivamente após 3,5 (t_1), 75,5 (t_2) e 123,5 horas (t_3) de operação.	57
Figura 23. Valores de DQO total registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	59
Figura 24. Valores de DQO filtrada registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	60
Figura 25. Valores de COD registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	61
Figura 26. Concentração de $N-NH_4^+$ registrada durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	62
Figura 27. Concentração de $N-NO_3^-$ registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	63
Figura 28. Concentração de $N-NO_2^-$ registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	64
Figura 29. Concentração de PS registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características de efluentes advindos do beneficiamento de carnes. ...	20
Tabela 2. Desempenho de FBRs aplicados ao cultivo de microalgas em efluentes.	22
Tabela 3. Caracterização dos efluentes utilizados como meio de cultivo.	36
Tabela 4. Características do inóculo adicionado nas OPR 1-6.	41
Tabela 5. Características da biomassa produzida nas OPR 1-6.	50
Tabela 6. Remoção de DQOf, COD, N-NH ₄ ⁺ , N-NO ₃ ⁻ , N-NO ₂ ⁻ e PS durante o cultivo de biomassa de microalgas nos efluentes avaliados.	58
Tabela 7. Conteúdo lipídico total (% na biomassa seca), produtividade de biomassa total (g/m ² .d) e produtividade lipídica (g/m ² .d) para cada efluente avaliado.	66
Tabela 8. Análise comparativa da produção de biomassa e de lipídios utilizando os efluentes primário e secundário avaliados como meios de cultivo em FBR coluna de bolhas.	69

RESUMO

TANGO, Mariana Daniel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2015. **Cultivo de microalgas em efluentes da indústria de beneficiamento de carnes em fotobiorreator do tipo coluna de bolhas.** Orientadora: Maria Lúcia Calijuri. Coorientadora: Maria do Carmo Calijuri.

O presente estudo teve por objetivo a avaliação do cultivo de microalgas em fotobiorreator do tipo coluna de bolhas, com a utilização de efluentes da indústria de beneficiamento de carnes, previamente tratados em nível primário e secundário. *Scenedesmus* sp. foi o gênero dominante da comunidade fitoplanctônica em ambos os efluentes avaliados. As maiores concentrações de biomassa, de 940 e 1.160 mg SSV/L, foram verificadas pelo cultivo em efluente primário, para as relações N/P de 4,8 e 15,8, respectivamente. Verificou-se a remoção satisfatória de N-NH_4^+ e PS em todas as operações, atingindo eficiências de 86-100% e 33-100%, respectivamente. Enquanto se observou a remoção rápida de COD no efluente primário (52,7-74,5%), houve incremento de COD no efluente secundário (1,6-75,1%). Como a biomassa cultivada em ambos os efluentes avaliados apresentou baixo conteúdo lipídico (< 10%), a maior produtividade lipídica verificada no efluente primário, de até 3,7 g/m².d, foi atribuída à sua maior produção de biomassa em relação ao efluente secundário. O desempenho energético do sistema foi avaliado em termos da produtividade específica de biomassa, P_B/E_C (mg/kJ), definida como a produtividade de biomassa por *input* energético e pela taxa energética líquida (NER), que relaciona a energia total produzida e a energia total consumida pelo sistema. Ambos os efluentes avaliados resultaram em valores de NER (biomassa e lipídios) e P_B/E_C reduzidos, indicando o baixo desempenho energético do sistema. Uma das maiores limitações verificadas foi o elevado consumo energético advindo da agitação do meio pelo compressor de ar utilizado. Ao menos que sejam exploradas as diversas possibilidades de redução do consumo energético e aumento do conteúdo lipídico, a utilização da biomassa produzida pelo cultivo nos efluentes avaliados deve ser direcionada a outro aproveitamento que não a produção de biodiesel.

ABSTRACT

TANGO, Mariana Daniel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2015. **Cultivation of microalgae in effluents from meat processing industry in bubble column type photobioreactor.** Advisor: Maria Lúcia Calijuri. Co-advisor: Maria do Carmo Calijuri.

The present study aimed to evaluate the cultivation of microalgae in bubble column type photobioreactor, with the use of effluents from meat processing industry, previously treated in primary and secondary level. *Scenedesmus* sp. was the dominant genre of the phytoplankton community in both evaluated effluents. The largest concentrations of biomass, 940 and 1.160 mg VSS/L, were verified by cultivation in primary effluent, for N/P ratios 15.8 and 4.8, respectively. It was found a satisfactory removal of N-NH₄⁺ and soluble P in all operations, achieving efficiencies of 86-100% and 33-100%, respectively. While a quick removal of DOC in the primary effluent (52.7-74.5%), there was an increase of DOC in secondary effluent (1.6-75.1%). As the biomass grown in both evaluated effluents presented a low lipidic content (<10%), the largest lipid productivity verified in the primary effluent, of up to 3.7 g/m².day, was attributed to its higher biomass production in relation to secondary effluent. The energy performance of the system was evaluated in terms of the metric specific biomass productivity, P_B/E_C (mg/kJ), defined as the biomass productivity per unit energy *input* and the net energy rate (NER), which relates the total energy produced and the total energy consumed by the system. Both evaluated effluent resulted in paltry NER (biomass and lipids) and P_B/E_C values, indicating a low energy system performance. One of the major limitations observed was the high energy consumption arising from the bustle of the medium by the air compressor utilized. Unless the various possibilities of reduction of energy consumption and increase of the lipidic content are explored, the use of the biomass produced by the cultivation in the evaluated effluents should be directed to a different use, rather than the production of biodiesel.

1. INTRODUÇÃO

Os elevados preços do petróleo e seus derivados, a alta demanda energética e intensos debates ambientais são alguns dos inúmeros fatores que, combinados, exercem influência decisiva no estímulo às pesquisas sobre fontes alternativas de energia. Neste sentido, destaca-se o biodiesel, que além de ser renovável e emitir menos gases de efeito estufa, produz também menos materiais particulados e óxidos de enxofre (SHARMA et al., 2008).

Em 2012, o Brasil participou com 11,3% da produção global de biodiesel (22,5 bilhões de litros), perdendo apenas para os EUA (14,3%). O país pode ser considerado uma das maiores potências mundiais em produção de biocombustíveis (biodiesel e bioetanol), área considerada estratégica na emergente *bioeconomia*. De acordo com o relatório mensal emitido em Abril de 2014 pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, ANP, a produção nacional de biodiesel é obtida principalmente das matérias-primas: soja (78,98%), gordura bovina (19,68%), algodão (1,06%), gordura de porco (0,75%), gordura de frango (0,22%) e outros materiais graxos (1,75%) – uma matriz ainda concentrada na produção de soja, que envolve, dentre outras, questões ambientais como o deslocamento da fronteira agrícola.

Dentre as inúmeras vantagens do uso de microalgas como biocombustíveis, destacam-se: (i) sua capacidade de produção ao longo de todo o ano, dessa forma, a produtividade lipídica excede o rendimento das culturas oleaginosas mais produtivas (SCHENK et al., 2008); ii) possibilidade de serem cultivadas em terras não aráveis, utilizando água não potável (SEARCHINGER et al., 2008); iii) seu rápido crescimento e acúmulo de lipídios (CHISTI, 2007); iv) possuem efeito positivo na qualidade do ar, fixando CO₂ (CHISTI, 2007); v) a produção de biodiesel de microalgas gera coprodutos como proteínas e biomassa residual, as quais podem ser utilizadas tanto para a produção de fertilizante e ração animal (SPOLAORE et al., 2006) quanto para produção de metano e etanol (HIRANO et al., 1997). Todavia, ainda não se chegou a um ponto ótimo de máxima produção e redução dos custos envolvidos.

Os mais avançados centros de pesquisa do mundo vêm trabalhando na direção de aproveitar ao máximo as potencialidades das microalgas, sobretudo, seu potencial energético. No âmbito de Viçosa, o Núcleo de Pesquisas Ambientais Avançadas (nPA) desenvolve pesquisas tecnológicas financiadas por órgãos de fomento em nível federal e estadual, as quais contemplam a produção de microalgas em lagoas de alta taxa (LATs) e fotobiorreatores (FBRs) utilizando efluentes como meio de cultivo, e o posterior aproveitamento da biomassa. Com o intuito de melhorar a produção, o conteúdo e o perfil lipídico de microalgas cultivadas em LATs, já foram (i e ii) ou são (iii à vi) atualmente avaliadas a influência de: (i) pré-desinfecção UV; (ii) radiação solar fotossinteticamente ativa; (iii) profundidade; (iv) recirculação da biomassa sedimentada de volta à LAT; (v) suplementação de CO₂ e (vi) instalação de painéis (para acréscimo aderido e captura do CO₂ atmosférico) no desempenho de LATs. Foi avaliada a utilização de efluentes domésticos para o cultivo de microalgas em FBR coluna de bolhas, visando tanto o tratamento dos efluentes quanto à produção de biodiesel. Em relação à utilização da biomassa, são atualmente avaliadas: (i) a produção de biogás em reator em dois estágios e (ii) a influência da aplicação de biofilme de microalgas na produção agrícola, na recuperação de pastagens degradadas e na emissão de gases de efeito estufa.

Apesar dos progressos científicos e das conhecidas vantagens associadas ao cultivo de microalgas, há muitos desafios a vencer. Uma das barreiras a se enfrentar é o elevado custo de produção da matéria-prima, que pode chegar a 75% do custo final do biodiesel (MATA et al., 2010). Apesar das microalgas possuírem maior produtividade lipídica (mg óleo/m².d) que a de plantas terrestres, o seu cultivo energético em larga escala demandaria, dentre outros *inputs*, elevado conteúdo de nutrientes (ABOU-SHANAB et al., 2013). Em muitos casos, efluentes municipais, agroindustriais, industriais, de suinocultura podem ser utilizados como fontes de água e nutrientes para a produção de microalgas, o que pode reduzir veemente os custos de produção.

A utilização de efluentes como meio de cultivo pode também melhorar o balanço energético (YANG et al., 2011) e reduzir os impactos ambientais associados à sua disposição em corpos d'água sem o tratamento prévio. Em

um cenário de crescente escassez de água e de aumento dos preços dos nutrientes – que quase dobrou na última década (PIRES et al., 2013) – tal abordagem representa um avanço rumo à viabilidade da produção de bioenergia através do cultivo de microalgas.

Devido à grande variação de efluentes, há imensa demanda por estudos que avaliem a influência da composição dos diversos efluentes na produtividade de biomassa, no acúmulo de lipídios e no tratamento do efluente. Além disso, grande parte dos estudos sobre o simultâneo tratamento de efluentes e produção de biomassa em fotobiorreatores (FBRs) utilizam sistemas de produção em escala laboratorial, meios de cultivo sintéticos ou diluídos e se restringem à avaliação apenas da eficiência do tratamento. Há poucas pesquisas sobre a produção energética de microalgas como um todo, que contemplem desde o cultivo em efluentes (particularmente, realizados em FBRs de escala piloto) à produção de biodiesel.

Frente ao que foi discutido, o presente estudo objetivou avaliar o cultivo de microalgas em efluentes da indústria do beneficiamento de carnes, visando tanto à produção de biomassa e acúmulo de lipídios como o tratamento do efluente. Objetivou-se ampliar o conhecimento em relação às microalgas, identificar fatores que potencializam sua produção em FBR do tipo coluna de bolhas, fornecendo subsídios para viabilizar a produção de biodiesel.

2. HIPÓTESES

Microalgas podem ser cultivadas em FBR coluna de bolhas utilizando efluentes da indústria de beneficiamento de carnes como meios de cultivo.

Espera-se que devido às diferenças de carga orgânica, concentrações de nutrientes (fósforo e nitrogênio) e sólidos suspensos, os efluentes primário e secundário apresentem comportamentos distintos no crescimento da biomassa algal, sendo que maior produtividade de biomassa algal é esperada no efluente primário, dada à maior concentração de fósforo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a aplicabilidade de efluentes da indústria do beneficiamento de carnes como meios de cultivo de microalgas em FBR coluna de bolhas.

3.2. Objetivos específicos

- Caracterização física e química dos efluentes utilizados como meios de cultivo.
- Determinar o comportamento das concentrações de SSV, feofitina e clorofila-*a* nos efluentes utilizados como meios de cultivo.
- Avaliar a remoção de nutrientes (C, N e P) nos efluentes utilizados como meios de cultivo.
- Identificar a composição fitoplanctônica predominante em cada efluente utilizado como meio de cultivo.
- Quantificar o conteúdo lipídico presente na biomassa produzida nos efluentes utilizados como meios de cultivo.
- Determinar o desempenho energético do sistema operado com cada efluente utilizado como meio de cultivo.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Microalgas para produção de biocombustíveis: uma visão integrada

A crise energética e os problemas ambientais associados à queima de combustíveis fósseis têm estimulado muitos pesquisadores a investigarem a possibilidade de se utilizar fontes alternativas de energia (ATABANI et al., 2012; LIU et al., 2012). Nesse contexto, a bioenergia emerge como uma opção renovável com grande potencial de satisfazer as necessidades da sociedade moderna.

Em relação a outras culturas energéticas, as microalgas – fonte de biocombustíveis de terceira geração, ou seja, derivados de microrganismos (DA SILVA et al., 2014) – possuem diversas vantagens, tais como elevado conteúdo lipídico, maior taxa fotossintética, maior produtividade de biomassa e

possibilidade de serem cultivadas em efluentes domésticos, agroindustriais e industriais. Além disso, não competem diretamente por terras agricultáveis (WIJFFELS & BARBOSA, 2010) ou comprometem a produção de alimentos e outros produtos derivados de culturas agrícolas (DEMIRBAS & DEMIRBAS, 2011).

As microalgas são compostas basicamente por lipídios, carboidratos, proteínas, ácidos graxos e uma variedade de moléculas orgânicas complexas, das quais muitas podem ser convertidas em biocombustíveis, enquanto outras podem ser utilizadas na produção de compostos altamente valorados como cosméticos, fármacos e suplementos alimentícios (ZHU, 2015). A ideia de aproveitar o conteúdo pleno da biomassa para a produção de diversos compostos é chamada biorrefinaria (FRESEWINKEL et al., 2014). De acordo com ZHU (2015), a integração da produção de biocombustíveis e substâncias valoradas convencionalmente estabelecidas no mercado configura-se como uma oportunidade de viabilizar a comercialização de biocombustíveis.

A produção de biocombustíveis como o biodiesel, bioetanol, biogás e muitos outros pode ser realizada via métodos termoquímicos e bioquímicos. No processo termoquímico, a biomassa é decomposta termicamente em biocombustíveis através de técnicas como a combustão direta, pirólise, liquefação termoquímica e gaseificação (PRAGYA et al., 2013). As técnicas de conversão bioquímica incluem a fermentação alcoólica, digestão anaeróbia e produção fotobiológica de hidrogênio (PRAGYA et al., 2013).

A Figura 1 exemplifica os processos bioquímicos de uma cadeia produtiva de biocombustíveis advindos de microalgas.

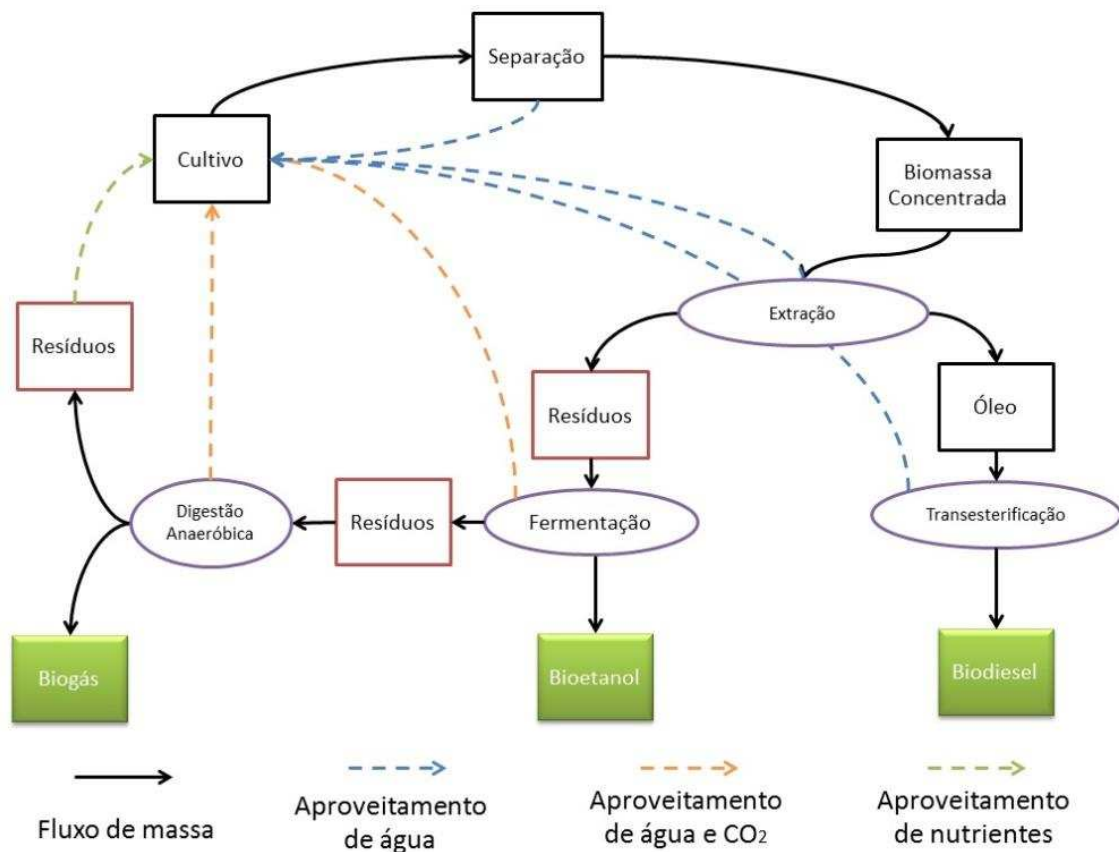


Figura 1. Fluxo de massa e reciclagem na biorrefinaria de microalgas (ZHU et al., 2014a).

Em relação à produção de biodiesel, duas etapas são necessárias: a extração de lipídios e a transesterificação. A extração de lipídios é considerada uma etapa de alta demanda energética e pode representar, juntamente com a etapa de separação da biomassa, uma parcela significativa na viabilidade econômica do processo de produção de biodiesel (FRANCO et al., 2013). Portanto, a escolha da técnica de extração deve considerar fatores como a espécie de microalga, o conteúdo inicial de lipídios e a quantidade de biomassa a ser tratada por vez (ASSEMANY, 2013).

Vários métodos de extração são reportados na literatura, sendo os mais comuns a extração com fluido pressurizado, a extração líquido-líquido (extração via solventes), extração com fluido supercrítico e a extração assistida por ultrassom (FRANCO et al., 2013; UGGETTI et al., 2014). Dependendo das características físico-químicas do óleo, a produção de biodiesel pode ser realizada por transesterificação catalisada, esterificação, esterificação seguida de transesterificação, hidroesterificação ou, ainda, a realização simultânea da

extração do óleo e transesterificação (transesterificação *in situ*) (FRANCO et al., 2013). Tais processos podem ser conduzidos com a aplicação de ultrassom, micro-ondas (FRANCO et al., 2013) ou outro processo para ruptura das células.

Para ser vantajosa, a produção de biocombustíveis de microalgas deve considerar o aproveitamento de subprodutos como pigmentos orgânicos, suplementos alimentares, ácidos graxos como o ômega 3, proteínas reativas, dentre outros (FRESEWINKEL et al., 2014). O cenário da biorrefinaria permite a produção de pequena quantidade de produtos altamente valorizados e, em contrapartida, grande quantidade de biocombustíveis como biodiesel e bioetanol, pouco valorizados (SUBHADRA & EDWARDS, 2011).

A Figura 2 demonstra o valor/tamanho de mercado e o preço dos produtos obtidos a partir de microalgas, assim como a relação destes com a demanda de mercado e por área.

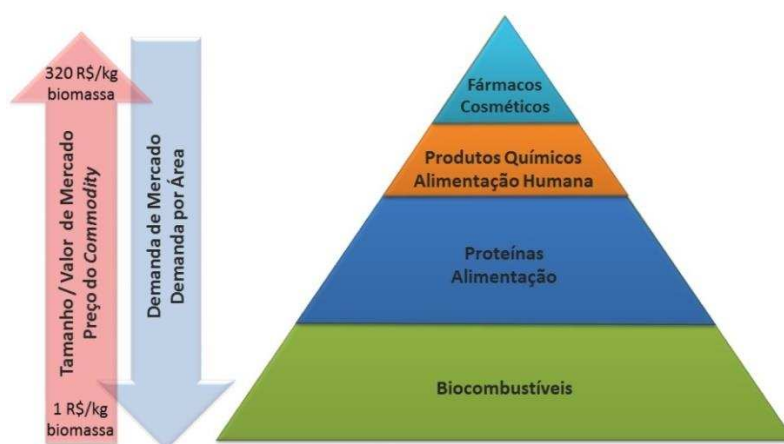


Figura 2. Valor, demanda e tamanho de mercado dos produtos obtidos a partir de microalgas e a demanda de área requerida para a produção dos diferentes itens (adaptado de FRESEWINKEL et al. (2014) e ZHU (2015)).

FRESEWINKEL et al. (2014) defendem a utilização dos resíduos da biomassa advindos da produção de produtos altamente valorizados para a produção de biocombustíveis. Isso porque a demanda de biocombustíveis é grande, todavia seu valor econômico ainda é reduzido. Além disso, os resíduos advindos do processamento de compostos valorizados ou mesmo após a extração lipídica são geralmente ricos em carboidratos (polissacarídeos), proteínas e pigmentos que podem ainda ser convertidos em uma variedade de biocombustíveis como

o biometano, bioetanol, biohidrogênio, biobutanol, dentre outros (PRAGYA et al., 2013).

Uma via ainda pouco explorada é a produção de bioetanol a partir de microalgas. Mesmo após a extração lipídica, os carboidratos presentes nas microalgas podem ser hidrolisados e então fermentados por leveduras para a produção do bioetanol (ZHU et al., 2014a). Com a pré-extração lipídica, *Chlorococum* sp. produziu 60% mais etanol do que aquelas que apresentavam as células intactas, já que a extração lipídica supercrítica com CO₂ pode romper as paredes celulares, resultando também na liberação de carboidratos prontos para a produção de bioetanol (HARUN et al., 2010).

Em relação à possibilidade de se utilizar os resíduos da extração de lipídios para produção de biogás, de acordo com CHISTI (2007), através de cálculos realizados a partir de dados apresentados por WULF (2005), após a extração de 30% de óleo, a quantidade de biogás produzida pela digestão anaeróbica da biomassa residual fornece ao menos 9360 MJ/ton. YANG et al. (2011) verificaram que a produção de metano a partir da digestão anaeróbica de biomassa derivada de processos de extração de lipídios atingiu 390 mL CH₄/g SV.d. Contudo, os resíduos de biomassa após a extração lipídica podem favorecer a inibição por amônia, devido aos maiores teores de proteína. Tal limitação pode ser superada pelo aumento da relação C:N através da codigestão. PARK & LI (2012) registraram a produção de 540 mL CH₄/g SV.d a partir da codigestão de resíduos de biomassa de microalgas e 150 mL/g SV.d a partir da digestão somente da biomassa de microalgas. EHIMEN et al. (2009), por outro lado, verificaram a diminuição da produção de metano pela presença de clorofórmio – solvente utilizado na extração lipídica precedente.

De acordo com ZHU et al. (2014a), a produção de etanol e biogás a partir dos resíduos de biomassa gerados em processos como na extração lipídica, pode aumentar a produtividade energética total e representa uma medida fundamental para manter ambos os aspectos energéticos e econômicos em equilíbrio. Após a produção de biocombustíveis, os nutrientes presentes na biomassa processada podem ainda ser utilizados no cultivo de microalgas ou destinados à produção de condicionantes ou fertilizantes de solo.

Analogamente, a água e o CO₂ produzidos nesses processos podem ser utilizados nos sistemas de cultivo de microalgas (ZHU et al., 2014a).

4.2. Sistemas de cultivo

A produção de microalgas é usualmente realizada em reatores, que podem ser abertos (como as lagoas de alta taxa – LATs) ou fechados (OZKAN et al., 2012; VASUMATHI et al., 2012), classificados de acordo com o seu *design* ou adequação à requisitos específicos de determinada cultura. Os reatores abertos, em geral, apresentam baixos custos e demanda energética e são principalmente aplicáveis onde existe alta disponibilidade de radiação solar e área. Como limitações, reporta-se a relativa facilidade de sofrerem contaminações e o menor controle sobre as condições de cultivo. Alternativamente, os reatores fechados, usualmente denominados fotobiorreatores, são projetados para superar essas limitações e potencializar a produtividade: são usualmente construídos com elevada razão superfície/volume - o que maximiza a exposição da cultura à luz - permitem maior controle das condições de cultivo (controle automatizado de pH, suplemento de CO₂, mistura, dentre outros) e reduzem o risco de contaminação.

Se, por um lado, os FBRs superam os reatores abertos em diversos aspectos; a elevada demanda energética, os custos operacionais, a possibilidade de ocorrência do *biofouling*, superaquecimento, estresse hidrodinâmico de culturas, dentre outras complexidades construtivo-operacionais ainda restringem sua aplicação em escala real. Logo, são usualmente aplicados para manter a produção de inóculo para reatores abertos de escala maior ou para a obtenção de produtos de alto valor agregado (SIERRA et al., 2008; BAHADAR & KHAN, 2013). De acordo com PEGALLAPATI et al. (2014), a seleção do FBR mais adequado para cada situação – considerando aspectos como a geometria ótima para a melhor utilização da luz incidente, taxa de borbulhamento para uma mistura eficiente do meio de cultivo, dentre outros – pode minimizar tais limitações.

Os materiais usualmente utilizados para a confecção dos sistemas incluem vidro, acrílico, polivinilcloro (PVC) e polietileno (ARBIB et al., 2013).

GROBBELAAR (2009) afirma que a escolha do sistema de cultivo deve ser condicionada ao propósito da produção, já que não existe um FBR que atenda todas as demandas possíveis. Grande parte dos sistemas de cultivo fechado foi desenvolvida para maximizar a relação superfície/volume (ARBIB et al., 2013). A busca pela otimização da produção de microalgas estimulou o desenvolvimento de FBRs com diversos *designs*, os quais podem ser classificados em três categorias básicas: (i) Coluna vertical; (ii) tubular e (iii) painel plano (WANG et al., 2012). De acordo com HULATT & THOMAS (2011), o balanço energético das diversas tipologias varia consideravelmente de acordo com a aplicação.

Em relação ao modo de operação, a taxa de transferência gás-líquido deve ser adequada para a assimilação de CO₂ e produção de O₂ pelas microalgas, a fim de se evitar a limitação de carbono e/ou a inibição pela saturação de O₂ no meio (OLIVIERI et al., 2013). Para se evitar o estresse hidrodinâmico, que resulta em dano celular, o fluxo de mistura deve ser turbulento, porém, adequado à geometria do FBR, ao tipo de bomba/compressor utilizada(o), à morfologia celular e às condições fisiológicas da cultura (GUDIN & CHAUMONT, 1991). Todos estes aspectos devem ser selecionados/adaptados de acordo com a unidade de cultivo, as espécies de interesse e o uso previsto (produção de cosméticos, alimentos, bioenergia, biofertilizantes, entre outros) (ZHU et al., 2013).

4.2.1. Fotobiorreatores tubulares

Os FBRs tubulares são, juntamente com os FBRs em painéis, os mais populares e considerados os mais promissores para o cultivo em áreas externas, pois são capazes de produzir elevada quantidade de biomassa em períodos de coleta reduzidos (BAHADAR & KLAN, 2013). Tal eficiência é atribuída à sua elevada área superficial e consequente disponibilidade luminosa (UGWU et al., 2008), a qual é substancialmente influenciada pela disposição do sistema - vertical, horizontal ou inclinada (WANG et al., 2012) e sua forma - convencional ou helicoidal, por exemplo (BAHADAR & KLAN., 2013). Contudo, dentre as limitações desse sistema, pode-se citar a baixa transferência de massa, que se configura como um problema ainda maior em larga escala (UGWU et al., 2008) e pode resultar em fotoinibição, saturação de

O₂ e elevação da temperatura a níveis inapropriados para determinados cultivos. Como consequência da elevação da temperatura, destaca-se o *biofouling*, processo de aderência de células à parede do sistema, que limita a penetração de luz, diminui a atividade fotossintética e o crescimento de biomassa (ARBIB et al., 2013). Em consequência da mistura ineficiente, são reportados gradientes de pH e presença de O₂ e CO₂ dissolvidos ao longo dos tubos (MATA et al., 2010). Para minimizar tais situações indesejáveis, diversas alternativas foram propostas. A fotoinibição, por exemplo, pode ser evitada pelo sombreamento (UGWU et al., 2008), aumento do diâmetro dos tubos (UGWU et al., 2005) e adequação das condições de mistura. A elevação da temperatura e a saturação de oxigênio podem ser minimizadas pela instalação de unidades de refrigeração (porém, com aumento do consumo energético) e unidades de circulação, respectivamente (TORZILLO et al., 1986).

4.2.2. Fotobiorreatores em painéis

FBRs em painéis possuem elevada área superficial, estreito caminho luminoso e podem ser orientados para obter a melhor exposição à radiação luminosa (WANG et al., 2012). A mistura pode ser promovida pelo bombeamento do meio de cultivo ou por aeração (MATA et al., 2010). Caracterizam-se pelo baixo custo, facilidade de manutenção, adequabilidade para o cultivo em áreas externas e para a imobilização de algas (UGWU et al., 2008; MATA et al., 2010). Como limitações, reporta-se sobre o difícil controle da temperatura, *biofouling* e estresse hidrodinâmico de algumas espécies de algas (UGWU et al., 2008). Ademais, sua ampliação de escala requer a utilização de diversos compartimentos e materiais de suporte (UGWU et al., 2008; MATA et al., 2010). Com a finalidade de se obter uma mistura adequada do meio de cultivo, TREDICI & MATERASSI (1992) propuseram um painel vertical alveolar, caracterizado por preço reduzido, elevada relação superfície/volume, flexibilidade, boa mistura e dispositivos de troca gasosa. Todavia, tais estudos verificaram a ocorrência de fotoinibição e dificuldade de controlar a temperatura. Outras tipologias foram reportadas por OLIVIERI et al. (2013). TREDICI & RODOLFI (2004) desenvolveram um FBR em painel que consistia em bolsas plásticas sustentadas por grades de ferro. Este *design* trouxe uma redução substancial dos custos desse tipo de FBR (SIERRA et al., 2008).

4.2.3. Fotobiorreatores de coluna vertical

FBRs de coluna vertical são adequados para o cultivo de microalgas em larga escala, pois são compactos, fáceis de operar e possuem custo reduzido (UGWU et al., 2008; WANG et al., 2012). Dentre os modelos de FBR de coluna vertical, o coluna de bolhas e o *airlift* geralmente não excedem 0,2 metros de diâmetro, para que não haja comprometimento da disponibilidade luminosa (SÁNCHEZ MIRÓN et al., 2000). Possuem extensão máxima de 4 metros, por razões estruturais e a fim de reduzir possíveis limitações de transferência de massa, que resultariam no estabelecimento de gradientes de pH, CO₂ e saturação de O₂ no meio de cultivo (WANG et al., 2012). De forma geral, promovem boa movimentação radial do fluido – aspecto importante para a otimização do ciclo claro/escuro – possuem baixa relação superfície/volume, boa mistura, baixa tensão de cisalhamento, baixo consumo energético, estabilidade de temperatura, baixa possibilidade de contaminação, boa imobilização de algas, boa transferência de massa e *hold-up* de gases (MATA et al., 2010). Perspectivas como estas reduzem consideravelmente a fotoinibição e a foto-oxidação. Dentre as limitações, destacam-se a pequena superfície de iluminação e dificuldade de ampliação de escala, já que sua construção envolve a utilização de materiais sofisticados e a instalação de vários módulos (MATA et al., 2010).

A estrutura de diferentes modelos de FBR de coluna vertical está ilustrada na Figura 3. O FBR coluna de bolhas (Figura 3A) é composto de uma coluna com a aeração localizada em sua base. Dependendo do *design*, painéis internos transpassados são instalados para romper as bolhas e aumentar a turbulência. O modelo *airlift* de circuito interno (Figura 3B) consiste em uma coluna transparente, uma coluna interna e um dispersor de ar. O ar, geralmente enriquecido com CO₂, é introduzido na base e sua liberação ocorre na porção superior. No modelo *airlift* com divisão de coluna (Figura 3C), uma placa divide o diâmetro da coluna em duas partes: a porção ascendente e a porção descendente. O ar é introduzido na base da porção ascendente e carrega o meio de cultivo para cima. A separação gás-líquido ocorre no topo da coluna e o líquido desprovido de gases desce, atingindo a base. Já, no FBR *airlift* de circuito externo (Figura 3D), a liberação de gases ocorre na região de

separação gás/líquido localizada no topo da coluna e a circulação do líquido desprovido de gás é promovida pela coluna de circulação externa (WANG et al., 2012).

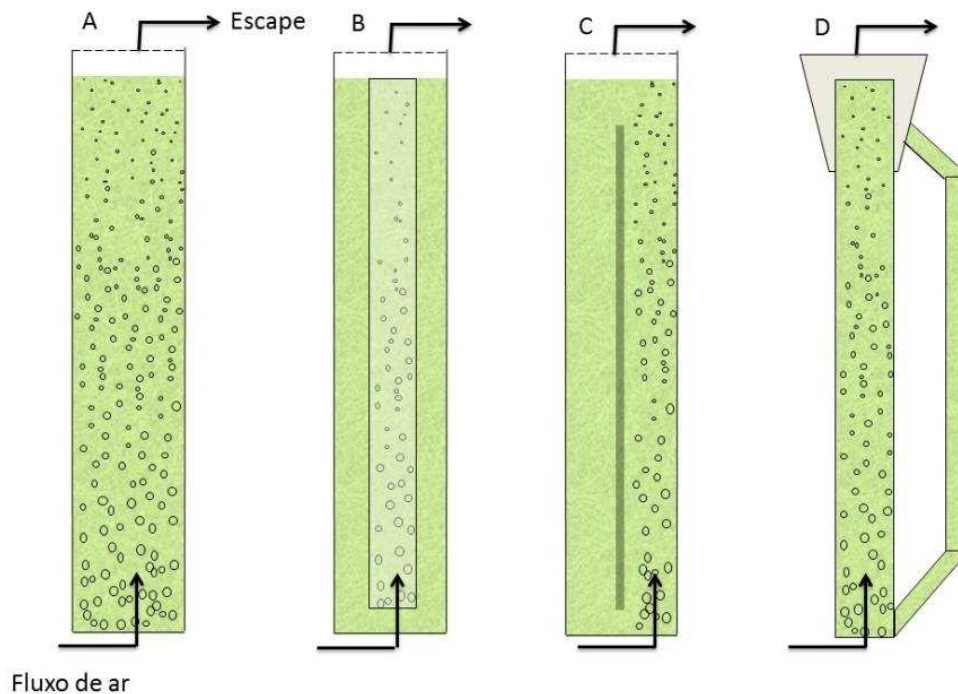


Figura 3. Diagrama esquemático de (A) FBR coluna de bolhas; (B) FBR *airlift* com circuito interno; (C) FBR *airlift* com divisão de coluna e (D) FBR *airlift* com circuito externo (WANG et al., 2012).

4.3. Cultivo de microalgas em efluentes

Vários meios de cultivo têm sido formulados para se adequarem aos requerimentos nutricionais de uma infinidade de espécies de microalgas. Para o sucesso da produção, o meio de cultivo deve fornecer energia, minerais e compostos orgânicos necessários ao crescimento e síntese celular. Os meios de cultivo utilizados para a produção de microalgas podem ser agrupados em três categorias básicas: (i) meio sintético completo; (ii) água natural enriquecida com suplementação mineral e (iii) efluentes (BECKER, 1994).

Efluentes domésticos, agrícolas e industriais podem conter elevadas concentrações de nutrientes mesmo após o tratamento secundário (ARBIB et al., 2013), que se lançadas em corpos hídricos sem o devido tratamento podem conduzir, dentre outros impactos ambientais negativos, à eutrofização (BABU et al., 2011), prejudicando a qualidade dos corpos receptores. CAI et al.

(2013) citam que as perdas devido à eutrofização nos Estados Unidos foi estimada em US \$ 2,2 bilhões em 2009. As tecnologias de tratamento convencionais baseadas em métodos químicos ou físicos são muitas vezes custosas (CAI et al., 2013). De acordo com PIREZ et al. (2013), a produção energética de microalgas em efluentes reduz a demanda por água e por nutrientes e ganha relevância à medida que se constata a potencialidade de transformar um passivo ambiental em fonte de produtos valorados. Ademais, a biorremediação a partir de microalgas não gera poluentes adicionais e, dentre outras aplicações, o nitrogênio e o fósforo assimilados pela biomassa podem ser utilizados como fertilizante ou como alimentação animal de baixo custo (PITTMAN et al., 2011).

Como o cultivo de microalgas em efluentes ocorre na presença de elevada quantidade de bactérias, o tratamento é geralmente baseado em um circuito nutricional simbiótico entre algas e bactérias (BECKER, 1994). Como ilustrado na Figura 4, o oxigênio produzido fotossinteticamente e liberado pelas algas é utilizado pelas bactérias para a degradação aeróbia de compostos orgânicos. Durante este processo, compostos orgânicos são parcialmente oxidados à CO_2 , que é então assimilado pelas algas. As algas também utilizam o nitrogênio e o fósforo solúvel do meio para a produção de biomassa. Geralmente, nutrientes são consumidos em quantidades maiores que as necessárias para o metabolismo celular (“metabolismo de luxo”), o que melhora o tratamento de efluentes (BECKER, 1994). Sob a condição de reduzida disponibilidade luminosa, algumas algas utilizam o metabolismo heterotrófico, para a assimilação de carbono orgânico (BECKER, 1994).

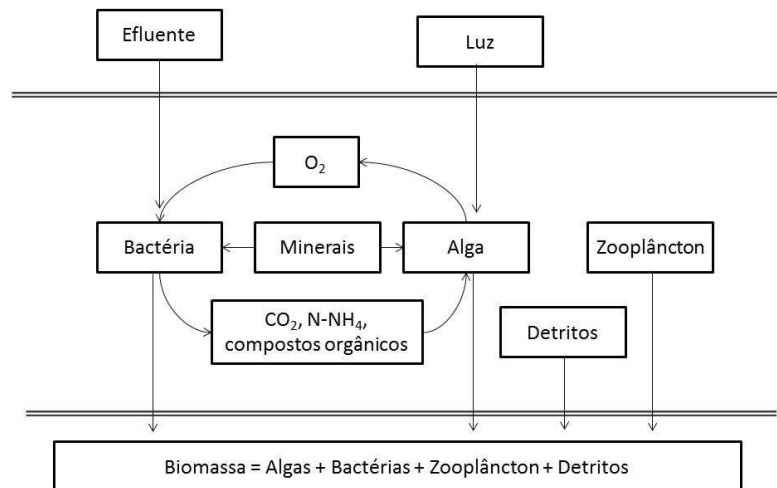


Figura 4. Interação dos fatores de maior influência no cultivo externo de microalgas (BECKER, 1994).

Em geral, pesquisas demonstram que a eficiência de remoção de nutrientes depende de fatores como: (i) tipo de cultivo (suspenso ou aderido); (ii) concentração inicial de microalgas; (iii) relação N/P; (iv) espécies predominantes; (v) condições de cultivo; (vi) fontes de nutrientes; (vii) características do efluente (PIRES et al., 2013). Tais variáveis são determinadas pelo tipo de efluente e seu impacto na produtividade está atrelado à espécie cultivada (PITTMAN et al., 2011). Devido às baixas concentrações de N e P e à elevada concentração de substâncias tóxicas, o crescimento de microalgas é geralmente baixo em efluentes industriais (PITTMAN, et al., 2011). Fatores bióticos como a existência de bactérias patogênicas e predação por zooplâncton somado à competição dos microrganismos por nutrientes também podem reduzir a produtividade de microalgas em efluentes (PITTMAN et al., 2011).

Diversas pesquisas avaliaram o cultivo de microalgas em efluentes sanitários (WANG et al., 2010; CHO et al., 2011; ARBIB et al., 2013; SHI et al., 2014), agrícolas (HONGYANG et al., 2011; MARQUES et al., 2013), agroindustriais (MULBRY et al., 2005; MULBRY et al., 2008; WOERTZ et al., 2009) e industriais (BHATNAGAR et al., 2011; CHEIRSILP et al., 2011)

A reciclagem de nutrientes e água pela utilização de efluentes pode reduzir os custos de produção. FENG et al. (2011) avaliaram a produção lipídica de

Chlorella vulgaris cultivada em efluente sintético em um FBR coluna de bolhas. A análise de custo demonstrou que a biomassa a partir de algas pode ser competitiva com o petróleo a US \$ 63,97/barril, com potencial crédito ao tratamento de efluente. YANG et al. (2011) avaliaram o ciclo de vida do biodiesel produzido a partir de microalgas, com foco no consumo de água e nutrientes. Os resultados indicaram que a utilização de água marinha ou de efluentes pode reduzir em até 90% o consumo de água tratada. Já a utilização de ambas as alternativas pode resultar na redução de 94% da utilização de nitrogênio e eliminar a necessidade de se adicionar potássio, magnésio e enxofre. Em um cenário de crescente escassez de água e de aumento dos preços dos nutrientes – que quase dobrou na última década (PIRES et al., 2013) – tais resultados representam um avanço rumo a viabilidade da produção de bioenergia através do cultivo de microalgas em efluentes.

4.3.1. Efluentes agroindustriais derivados do processamento de animais

As atividades agropecuárias e de processamento de produtos agropecuários (realizado pelas agroindústrias) geram grande quantidade de resíduos sólidos e efluentes, cuja composição é função, principalmente, do tipo e quantidade de matéria-prima processada e das técnicas empregadas no processamento (VERHEIJEN, 1996). Efluentes agroindustriais são gerados sazonalmente - por exemplo, no processamento de alimentos, fibras, couro, madeira, produção de açúcar e álcool - como o resultado da lavagem do produto, esaldamento, cozimento, pasteurização, resfriamento e lavagem do equipamento de processamento e das instalações (MIDDLEBROOKS, 1979). Os efluentes gerados no processamento de produtos de origem vegetal podem conter elevada concentração de proteínas, carboidratos e lipídios, juntamente com compostos aromáticos e alifáticos (FEDERICI et al., 2009). Os efluentes do processamento de produtos animais, tal como os gerados em laticínios, curtumes e processamento de carnes podem conter gordura, sólidos orgânicos e inorgânicos, além de substâncias químicas que podem ser adicionadas durante as operações de processamento (VERHEIJEN, 1996). A seguir são apresentadas as características gerais de efluentes advindos de algumas agroindústrias de processamento de matéria-prima animal.

4.3.2. Indústria de laticínios

Os efluentes das indústrias de laticínios apresentam ampla variação de composição e vazão, dependendo do período do dia e do tipo de atividade executada (VERHEIJEN, 1996). De forma geral, tais efluentes possuem elevadas concentrações de DBO, DQO, amônia, fosfatos, sólidos suspensos e dissolvidos como lactose, gordura e proteínas originadas do leite (MARKOU & GEORGAKAKIS, 2011). Contudo, a variedade de produtos das indústrias de laticínios é grande, abrangendo desde o processamento do leite até a elaboração de produtos mais trabalhados, tais como queijos diversos, requeijão, cremes, sorvetes, iogurtes, leite em pó, leite condensado, entre outros (VERHEIJEN, 1996). De acordo com MARKOU & GEORGAKAKIS (2011), o soro gerado no processamento de queijos é o mais problemático, devido à elevada concentração de DBO (30-50 g/L), DQO (60-100 g/L) e nutrientes (N e P), os quais podem ser reciclados no cultivo de biomassa algal. Nesse sentido, WOERTZ et al. (2009), MULBRY et al. (2005), WANG et al. (2010) utilizaram o efluente de laticínios anaerobiamente digerido para o cultivo de microalgas. Dependendo da diluição utilizada para o meio de cultivo, WOERTZ et al. (2009) verificaram de 14 a 29% de lipídios (massa seca) e produtividade lipídica de 2,8 g/m².d. WANG et al. (2010) avaliaram a influencia das diferentes diluições do efluente na taxa de crescimento algal, remoção de nutrientes, conteúdo e composição de ácidos graxos. Os autores observaram que quanto menor a diluição, menor era o crescimento de *Chlorella* sp, dada a elevada turbidez do meio de cultivo. Foram verificadas remoções de até 100% de N-NH₄, 82.5% de NT, 74.7% de PT e 38.4% de DQO nas diferentes diluições. O conteúdo total de ácidos graxos (composto por fosfolipídios, glicolipídios e lipídios neutros como ésters e triacilglicerídios) variou de 9-13,7%, dependendo da diluição avaliada.

4.3.3. Curtume

Em geral, o processamento do couro produz efluentes caracterizados pela elevada carga orgânica, dureza, elevada concentração de sólidos suspensos, cor intensa e elevadas concentrações de sulfetos e de cromo. O cromo, presente nos efluentes de curtumes que utilizam sais de cromo na operação

de curtimento, é considerado um poluente significativo, por ser potencialmente tóxico à biota (VERHEIJEN, 1996).

REHMAN & SHAKOORI (2001) isolaram o gênero *Chlorella* sp. em efluente de curtume, o que evidenciou a resistência desse gênero às condições adversas existentes nesse meio de cultivo. A resistência a cada um dos metais Cr^{+6} , Cr^{+2} , Pb^{+2} e Cd^{+2} foi avaliada quantitativamente pelo cultivo da microalga em meios contendo os íons nas concentrações de 14 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os autores observaram, como esperado, que quanto maior a concentração de metais na solução, menor foi o crescimento de *Chlorella* nesse meio. Todavia, a inibição do crescimento não foi muito pronunciada mesmo em solução contendo 12 $\mu\text{g Cr}^{+6}/\text{mL}$. Os autores citam estudos em que foram verificadas remoções de metais por algas através dos processos de bioabsorção, adsorção e bioacumulação. A capacidade de redução do Cr^{+6} foi também avaliada para o meio contendo 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ deste metal. Houve redução de 90% do Cr^{+6} após 7 dias, 93% após 14 dias, 95% após 21 dias e 97% após 28 dias de cultivo. A biorremediação de efluente de curtume foi também avaliada por AJAYAN et al. (2015) através do cultivo de *Scenedesmus* sp. isolado do habitat local. Os autores verificaram não apenas a remoção de metais (81-96% de Cr; 73-98% de Cu, 75-98% de Pb e 65-98% de Zn), mas também a remoção de nutrientes (cima de 44% e 95% de N-NO_3 e P-PO_4 , respectivamente) após 12 dias de cultivo, destacando o grande potencial deste gênero para o tratamento terciário de efluentes.

4.3.4. Efluentes do processamento de carne

Nos processos de produção de carne, em seus diversos estágios (desde o abate ao beneficiamento de alimentos e produtos derivados de animais), há uma imensa potencialidade de recuperação de nutrientes a partir dos efluentes gerados e produção de itens valorados.

A Figura 5 exemplifica um fluxograma de uma cadeia produtiva de alimentos e subprodutos derivados de carne bovina, suína ou ovina.

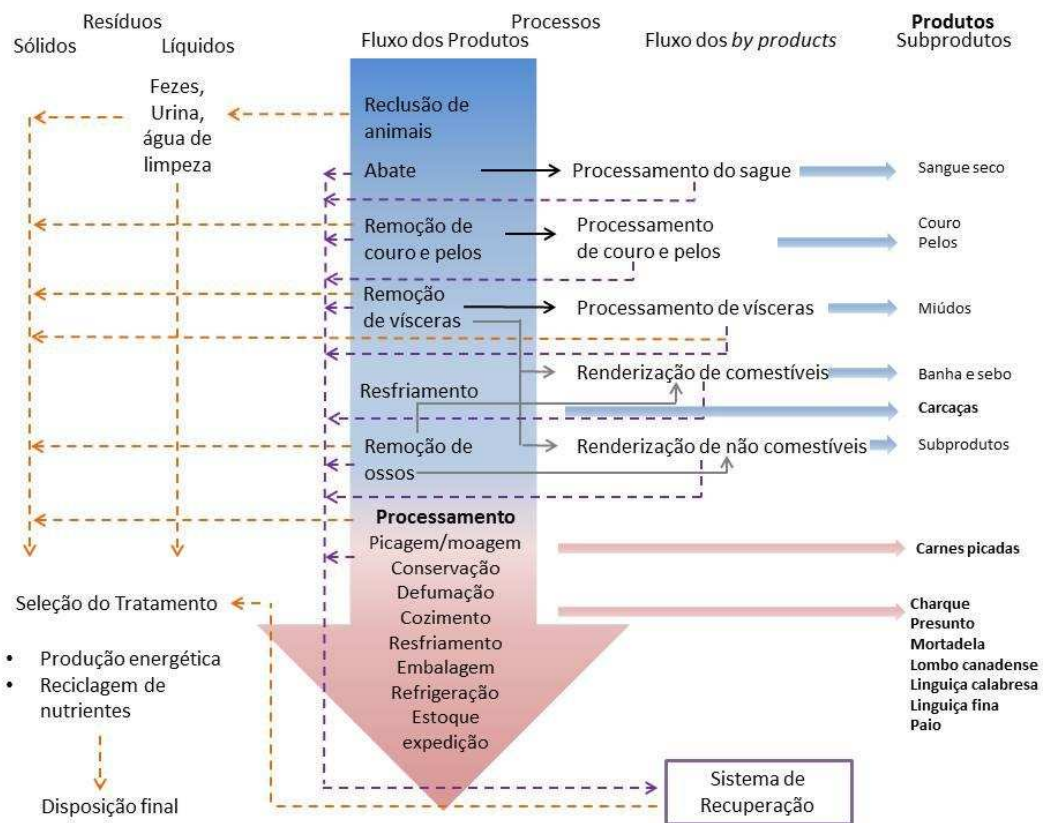


Figura 5. Fluxograma de uma cadeia produtiva de alimentos e subprodutos derivados de carne bovina, suína ou ovina (adaptada de CARAWAN et al., 1979).

Juntamente com as questões de risco e as de ordem ambiental, os resíduos advindos do processamento de carnes possuem características que viabilizam sua conversão a produtos de maior valoração como *by products* ou como *input* de outra indústria ou ainda para sua utilização para alimentação humana ou animal após o tratamento adequado. Particularmente, a utilização de resíduos do processamento de carne tem recebido atenção pelo fato de representarem um recurso passível de conversão a produtos diversos (JAYATHILAKAN et al., 2012).

As pesquisas destinadas a aplicação de efluentes do processamento de carne como meio de cultivo de microalgas se concentram na etapa de abate (RODRIGUES et al., 2014). Todavia, não foram identificados estudos que avaliassem a aplicação de efluentes das demais etapas da cadeia produtiva de carnes - como os advindos da etapa de beneficiamento - ao cultivo de microalgas.

Em particular, o beneficiamento de carne consiste na produção de diversas variedades de salsichas, presuntos, bacon, carnes enlatadas, carnes em conserva, hambúrgueres, cortes proporcionais, entre outros (CARAWAN et al., 1979). Os efluentes desta etapa caracterizam-se principalmente por elevada carga orgânica (DBO₅ e DQO); elevado conteúdo de gordura; flutuações de pH (em função do uso de agentes de limpeza ácidos e básicos) e temperatura (uso de água quente e fria); elevados conteúdos de nitrogênio, fósforo, sólidos em suspensão; teores significativos de sais diversos de cura e, eventualmente, de compostos aromáticos (no caso de processos de defumação de produtos de carne). Juntamente com sangue, há material altamente putrescível, que entram em decomposição poucas horas depois de sua geração (PACHECO, 2006). As perdas de soluções de cura, contendo grandes quantidades de sais e outros produtos (como dextrose), contribuem com matéria orgânica, cloretos, nitratos e nitritos. Além disto, as operações de limpeza e sanitização agregam substâncias como detergentes e sanitizantes aos efluentes (PACHECO, 2006).

A Tabela 1 apresenta as características verificadas em efluentes gerados no beneficiamento de carne.

Tabela 1. Características de efluentes advindos do beneficiamento de carnes.

Variável	Valor
Vazão (m ³ /t peso vivo)	4,8-6,7 ^c
DBO (kg/L)	0,9 ^a -3,2 ^b
DQO (kg/L)	6,0 ^b
SS (kg/t peso vivo)	2,1-6,3 ^c
Óleos e graxas (kg/t peso vivo)	1,6-6,1 ^c
NT (kg/t peso vivo)	0,3 ^c
PT (kg/t peso vivo)	0,07 ^c
pH	6-8 ^c

Referências: (a) LIM et al. (2009); (b) HEILMANN & LOGAN (2006) e (c) PACHECO (2006).

Características como a elevada concentração de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo podem favorecer o crescimento de microalgas nesse tipo de efluente. Outra variável importante em efluentes advindos do beneficiamento de carnes são os sólidos suspensos, que em quantidades elevadas podem resultar no fenômeno de sombreamento, indesejável em sistemas de produção de

microalgas, por reduzir a penetração de luz e, conseqüentemente, a taxa fotossintética. Nos sistemas de cultivo, é necessário garantir o controle do pH e temperatura, já que tais efluentes possuem instabilidade em relação à essas variáveis. A presença de substâncias tóxicas, como compostos aromáticos e características como a elevada condutividade podem inibir o crescimento de determinadas espécies de microalgas. Nesse sentido, MUÑOZ & GUIEYSSE (2006) sugerem a mistura eficiente, recirculação do efluente e a escolha adequada das espécies de cultivo.

Por mais que o processo de valoração de resíduos seja uma grande preocupação do setor agroindustrial, a escassez de pesquisas que avaliem a aplicação de efluentes advindos das diversas etapas de processamento de carnes para o cultivo de microalgas é uma oportunidade de investigação do potencial de recuperação de nutrientes e da produção de biocombustíveis a partir do cultivo desta biomassa.

4.4. Fotobiorreatores para a produção de microalgas e tratamento de efluentes

Dentre os fatores indispensáveis para a produção de biocombustíveis de microalgas em larga escala, destacam-se: (i) o baixo custo do meio de cultivo e do sistema de cultivo; (ii) suplementação de CO₂; (iii) métodos eficientes de separação da biomassa e (iv) métodos de extração de lipídios de baixo custo e baixo *input* energético (CAI et al., 2013). A produção de microalgas em reatores econômicos aliada à utilização de efluentes como meio de cultivo foi primeiramente avaliada por Willian J. Oswald, no final da década de 50 (PICOT et al., 1991) com o desenvolvimento da LAT. Essa tecnologia já foi extensivamente avaliada para o cultivo de microalgas em águas residuárias como esgoto sanitário (CRAGGS et al., 2003; GARCÍA et al., 2006; PARK e CRAGGS, 2010), resíduos agroindustriais (ZAID-ISO,1990), resíduos industriais (KAPLAN et al., 1988) e de suinocultura (DE GODOS et al., 2009). Alternativamente, FBRs têm atraído à atenção quando o assunto é a produção de biomassa algal para a produção de biocombustíveis (ZHU, J. et al., 2013) e fixação de CO₂ atmosférico.

Contudo, grande parte dos estudos sobre o simultâneo tratamento de efluentes e produção de biomassa em FBRs utilizam sistemas de produção em escala laboratorial (ABOU-SHANAB et al., 2013; CHO et al., 2011; WANG et al., 2010), meios de cultivo sintéticos (ZHU et al., 2014b; LIM et al., 2013; FENG et al., 2011) ou diluídos (MARQUES et al., 2013; WANG et al., 2010) e se restringem à avaliação apenas da eficiência do tratamento.

A Tabela 2 apresenta as características nutricionais dos efluentes utilizados para o cultivo de microalgas em FBRs e o desempenho em termos de produtividade de biomassa (P_b), conteúdo lipídico (C_L) e produtividade lipídica (P_L). As fontes de nitrogênio e fósforo não especificadas na tabela se referem ao N e P totais presentes no meio.

Tabela 2. Desempenho de FBRs aplicados ao cultivo de microalgas em efluentes.

Categoria do efluente	FBRs	C:N:P	P_b (g/L.d)	C_L (%)	P_L (g/m³.d)	Referências
Abatedouro Doméstico	Coluna de Bolhas	1444 ^d :45:1	0,6	-	-	RODRIGUES et al. (2014)
Doméstico	Reator de membranas	(-):2,9:1	6,3 ^h	-	-	SHI et al. (2014)
Doméstico	Reator de membranas	29 ^d :8:1	2,5 ⁱ	-	-	ZAMALLOA et al. (2013)
Doméstico	Tubular	39 ^d :13:1	22,0 ^h	21,0	4,6 ^h	ARBIB et al. (2013)
Doméstico	Helicoidal	11 ^d :1:1	0,9	11,0 ^f	120,0 ^g	LI et al. (2011)
Laticínios	Tanque de agitação	(-):36:2 ^c à (-):81:3 ^c	-	8,0-29,0	-	WOERTZ et al. (2009)
Processamento de peixe	Coluna de Bolhas	153 ^d :12 ^a :1 ^c	0,4	13,8	50,0	QUEIROZ et al. (2013)
Suínocultura	Coluna de Bolhas	24 ^d :1:1	0,3	35,0-40,0	110,6	ZHU et al. (2013)
Vinhaça (beterraba)	Tubular	15 ^d :1 ^a :(-) à 31 ^d :1 ^a :(-)	0,2	-	-	BARROCAL et al. (2010)

(a) Nitrogênio Kjeldahl total; (b) Nitrogênio amoniacal; (c) Fosfato; (d) Demanda química de oxigênio (DQO); (e) C-acetato; (f) em termos de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME); (g) g FAME/L; (h) g/m².d; (i) g massa seca/m².d; (-)/-: valor não informado.

O cultivo de diferentes níveis de efluente doméstico em FBRs foi verificado sobretudo em FBRs de membranas. Ao contrário do cultivo suspenso, a imobilização de células alia cultivo e separação de biomassa. Contudo, alguns fragmentos celulares podem se desprender da matriz devido a variáveis operacionais como a hidrodinâmica. RUIZ-MARIN et al. (2010) avaliaram o cultivo suspenso e aderido de *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*. Os autores verificaram menor remoção de nutrientes no cultivo aderido, fato atribuído possivelmente à maior dificuldade de transferência de massa (nutrientes) na matriz de imobilização. Outra questão influente no cultivo aderido é o acúmulo de sólidos suspensos e a contaminação do biofilme por bactérias ou outros microrganismos endêmicos. ZAMALLOA et al. (2013) avaliaram um sistema combinado de tratamento químico-biológico, com a produção de microalgas em um reator de membrana instalado no telhado de uma residência. Apesar de o sistema ter sido inoculado com a espécie *Scenedesmus obliquus*, ao final do experimento observou-se a dominância dos gêneros *Phormidium* sp. e *Oscillatoria* sp. na superfície do biofilme, além da presença de diatomáceas, cianobactérias e bactérias. Utilizando um FBR de membrana dupla, SHI et al. (2014) avaliaram o cultivo em batelada de *Halochlorella rubescens* em quatro tipos de efluentes domésticos. Diferentemente dos estudos anteriores, os autores afirmam que o cultivo aderido de microalgas não foi prejudicado pela lixiviação ou apresentou contaminação por microrganismos, atingindo produtividade média de 6,3 g/m².d e eficiência de remoção de fósforo e nitrogênio de 70 a 99%, respectivamente.

Todavia, o cultivo de microalgas convencionalmente estabelecido é o suspenso (PIRES et al., 2013), muito aplicado para o tratamento terciário de efluentes. Tal nível de tratamento foi avaliado por ARBIB et al. (2013) através do cultivo de *Scenedesmus obliquus* em um FBR tubular de fluxo horizontal e uma LAT. Os autores observaram que a atividade fotossintética no FBR foi até 2,5 vezes maior que a da LAT. A remoção de nitrogênio e fósforo no FBR foi em média, respectivamente, 90 e 87%. O conteúdo lipídico não foi significativamente diferente ($p < 0,005$) do verificado na LAT, totalizando em média 21% (massa seca). O principal problema enfrentado foi a fixação de

lodo na parede interna do FBR, o que prejudicou o geração de biomassa. O cultivo de espécies de *Chlorella* sp. em efluente doméstico secundário concentrado foi avaliado por LI et al. (2011), operando um FBR em formato helicoidal. Os efluentes autoclavado e bruto foram avaliados em termos de remoção de nutrientes (C, N e P) e produtividade de FAME. Após a operação, verificou-se remoção de 94% de N-NH₄, 89% de NT, 81% de PT e 91% de COD do efluente bruto. A produtividade de biomassa atingiu 0,92 g de algas/L.d, o FAME foi quantificado em 11% (massa seca), correspondendo a uma produtividade de 0,12 g de biodiesel/L de solução de algas.

Comparados com o efluente doméstico, efluentes advindos da produção animal usualmente possuem maiores concentrações de N e P. Todavia, para o cultivo de microalgas, efluentes muito concentrados necessitam de diluição. Objetivando a determinação da concentração ótima de nutrientes presentes em efluente de suinocultura para a produção máxima de *Chlorella zofingjensi* em FBR coluna de bolhas, ZHU et al. (2013) avaliaram seis níveis de diluição de efluente. Apesar de os poluentes terem sido removidos eficientemente em todos os tratamentos, tais autores verificaram que quanto maior a concentração de nutrientes, menor foi o conteúdo lipídico da cultura. A diluição correspondente a 1900 mg DQO/L obteve os melhores resultados de remoção de nutrientes (80% de COD; 83% de NT e 98% de PT), produção de biomassa (0,3 g/L.d) e produção de lipídios (110,6 g/m³.d). Além da produção animal, processos subsequentes como o abate geram efluentes ricos em nutrientes, que podem ser reciclados na forma de produtos valorados. RODRIGUES et al. (2014) não avaliaram a produtividade lipídica e sim a produção de carotenóides a partir da microalga *Phormidium autumnale* cultivada em efluente de abatedouro na ausência de luz. O cultivo foi realizado em um reator coluna de bolhas de 2 L operando em batelada a 1 vvm e obteve produtividade de 630 g de biomassa/m³.d, resultando em uma produção total de carotenóides de 0,12 g/m³/d. Análises de sensibilidade indicaram a possibilidade de se obter 107.902,5 kg de carotenóides totais/ano em escala industrial.

O FBR coluna de bolhas foi também avaliado por QUEIROZ et al. (2013) para a monocultura da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nägeli* em efluente do processamento de peixes, sob condições de heterotrofia. Aliado ao

tratamento do efluente em questão, o objetivo do estudo foi desenvolver bioprocessos para a sua conversão em óleo e proteína, visando, respectivamente, a produção de biodiesel e ração animal. Foi verificado um rápido crescimento da cultura, atingindo uma produtividade de biomassa média de 0,36 g/L.d. Os valores dos coeficientes de rendimento de substratos indicaram que havia grande conteúdo de matéria orgânica e pouca conversão à biomassa ($Y_{X/DQO} = 0,28$ g células/g DQO). Por outro lado, grande conversão de nitrogênio ($Y_{X/N-NKT} = 4,22$ g células/g N-NKT) e fósforo ($Y_{X/P-PO_4} = 75,9$ g células/g P- PO_4^{-3}) em biomassa. De acordo com os autores, a baixa conversão de matéria orgânica em biomassa é resultado do metabolismo heterotrófico dos microrganismos, onde a fonte de carbono é consumida na ausência de luz. Apesar disso, o sistema avaliado promoveu a remoção de 100% de matéria orgânica, 93% de NT e 100% de PT. A produtividade de biomassa aliada a um conteúdo lipídico médio de 13,8% (massa seca) resultou na produção de 50 g lipídios/m³.d. O conteúdo de proteína obtido foi de 53%, composta por amino ácidos essenciais para a alimentação animal sugerida pela FAO/WHO (FAO/WHO, 1968).

Atividades industriais, como a produção do álcool advindo da fermentação de melaço produzem um efluente altamente poluente denominado vinhaça. Com o objetivo de avaliar a aplicabilidade da vinhaça (produzida pela fermentação do melaço de beterraba) como meio de cultivo de *Spirulina máxima*, BARROCAL et al. (2010) investigaram a influência da concentração desse efluente na produtividade de biomassa em culturas intermitente (experimento laboratorial) e contínua (FBR tubular). Para tanto, variaram o meio de cultivo através da adição de 1 a 7 g/L de vinhaça em meio Slösser (MS). A operação contínua em FBR tubular com o MS suplementado com 2 g/L de vinhaça resultou na maior produtividade de *S. máxima* registrada, inclusive maior que a do MS sem vinhaça. Todavia, a quantificação do conteúdo lipídico ou qualquer avaliação visando à produção de energia não foram implementadas.

4.5. Considerações finais

Grande parte dos estudos sobre o simultâneo tratamento de efluentes e produção de biomassa em FBR utilizam sistemas de produção em escala laboratorial, meios de cultivo sintéticos ou diluídos e se restringem à avaliação

apenas da eficiência do tratamento. Há poucas pesquisas sobre a produção energética de microalgas como um todo, que contemplem desde o cultivo em efluentes (particularmente, em FBRs de escala piloto) à produção de biocombustíveis. Devido à grande variação de efluentes, há imensa demanda por estudos que avaliem a influência da composição dos diversos efluentes na produtividade de biomassa e no tratamento do mesmo. Com o objetivo de reduzir os custos, muitos estudos apostam na descentralização das unidades de produção. A avaliação da viabilidade e sustentabilidade da produção de biocombustíveis de microalgas em efluentes é necessária e pode ser realizada através de análises de ciclo de vida, o qual permite quantificar os potenciais retornos energéticos, a pegada de carbono e identificar os principais limitantes da cadeia produtiva. Apesar do elevado potencial de aplicação das microalgas no contexto da biorrefinaria (devido à sua ampla variedade de composição da sua biomassa), a cogeração de múltiplos produtos é ainda um desafio. Além dos lipídios, o aproveitamento de outros componentes celulares como a proteína (para a alimentação animal) é considerado uma via pouco explorada e promissora, que agrega valor e se adequa perfeitamente ao conceito de biorrefinaria. Ademais, estudos sobre a utilização dos resíduos gerados após a extração lipídica, apesar de incipientes, demonstram grande potencial para manter ambos os aspectos energéticos e econômicos em equilíbrio.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Área de estudo

O experimento foi conduzido na área externa do Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA) no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais (20°45'14"S, 42°52'54"W). O município de Viçosa, com altitude média de 648 m em relação ao nível do mar, caracteriza-se por uma precipitação média anual de aproximadamente 1221 mm e temperatura média anual que oscila entre 19 °C e 20 °C. A umidade relativa do ar é, em média, de 81%. O clima local caracteriza-se como tropical de altitude com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos (ROCHA et al., 2012).

5.2. Unidade experimental

O FBR coluna de bolhas consistiu em três tubos de acrílico independentes, com fundo em formato de meia esfera, diâmetro de 15 cm e volume total de 16 litros cada. Os tubos foram dispostos paralelamente em um suporte de madeira na posição vertical, de forma à melhor aproveitar a iluminação solar durante todo o dia.

A mistura do meio de cultivo foi realizada em período integral, através do borbulhamento de ar (0,625 vvm*) enriquecido com CO₂ (6,5%, v/v). A taxa de aeração e a concentração de CO₂ foram adotadas com base no estudo de ANJOS et al. (2013), cuja biofixação máxima de CO₂ por *Chlorella vulgaris* em FBR coluna de bolhas foi obtida utilizando tais condições, após sete dias de cultivo a 30 °C.

O ar para a mistura foi fornecido por um compressor de ar diafragmático de potência (Pt) 0,25 kW, e conduzido para cada tubo de acrílico através de mangueira pneumática seguida de tubo de PVC conectado a dispersor de pedra porosa cilíndrica (As-001 22x12mm). O tubo de PVC se aplicou à condução e mistura dos gases. Para o controle dos fluxos, foram instalados registros/válvulas e fluxômetros de precisão 0-15 L/min.

O suplemento de CO₂ foi controlado a partir da variação do pH nas unidades. O pH foi mantido entre 6 e 8, sendo que ao atingir o valor de 8,0 a adição de CO₂ era acionada e mantida até que o valor atingisse 6. Para tal sistema automatizado, foi utilizada uma sonda para medição em tempo real de pH e temperatura (controlador sc200 da marca HACH e sensor analógico de pH diferencial para efluentes), com sistema de emissão de sinal elétrico compatível com válvula solenóide para controle da adição de CO₂.

Os principais componentes do sistema são apresentados na Figura 7a, assim como as dimensões dos tubos de acrílico utilizados na Figura 7b.

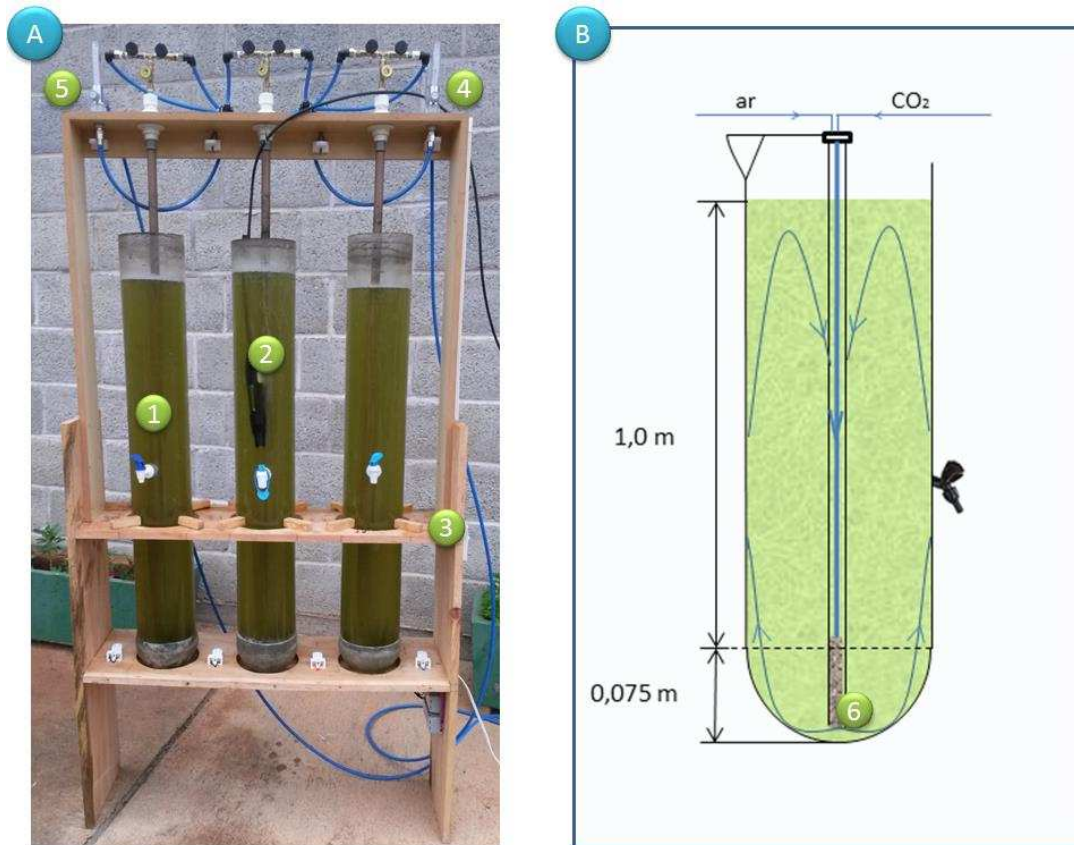


Figura 6. (A) FBR coluna de bolhas. A numeração indica as partes constituintes: (1) tubo de acrílico; (2) sensor de pH; (3) estrutura de madeira para suporte; (4 e 5) fluxômetros; (B) (6) destaque para o dispersor e dimensões de cada tubo.

5.3. Meio de cultivo

5.3.1. Origem dos efluentes utilizados como meio de cultivo

A indústria alimentícia que forneceu o efluente para a pesquisa tem como atividade a produção de embutidos (salames do tipo mortadela, presuntos, apresuntados, linguiças diversas, salsichões, entre outros) e a produção de bacalhau dessalgado desfiado. Não existe abate no local, sendo que toda a matéria-prima para a produção dos embutidos, produtos cárneos, são procedentes de outras unidades industriais da empresa. Já o bacalhau, a empresa importa em peças inteiras e salgadas. O processo industrial de produção dos embutidos consiste, basicamente, na moagem e mistura dos produtos cárneos, tempero, preparação da massa, embutidos, cozimento, resfriamento, processo de embalagem e resfriamento/congelamento em câmaras frias. Alguns embutidos passam também pelo processo de

defumação. Já a produção de bacalhau desfiado consiste basicamente na dessalga em tanques, desfiamento, envio ao setor de embalagem e congelamento.

Os efluentes de origem industrial são gerados nas diversas etapas do processo produtivo, em especial nos descartes dos tanques de cozimento e resfriamento dos embutidos e descartes dos tanques de dessalga do bacalhau. Há também considerável geração de efluentes durante a lavagem dos pisos e equipamentos ao final dos processos produtivos.

Os efluentes líquidos de origem industrial são direcionados à estação elevatória de esgoto onde são bombeados para a Estação de Tratamento de Efluentes - ETE na concepção básica de lodos ativados. A taxa de geração de efluente é de cerca de 6 a 8 m³/hora. A ETE é composta das seguintes etapas: peneiramento em malha de 0,5 mm; etapa de flotação em flotador físico-químico (com adição de sulfato de alumínio e polímero) e reator de lodos ativados. Após a etapa de decantação o efluente tratado é descartado à rede de esgoto municipal. O lodo separado no decantador secundário, rico em bactérias, retorna ao reator de lodos ativados para auxiliar no tratamento biológico. Quando há excesso de lodo, o mesmo é descartado nos leitos de secagem de lodo.

Os efluentes de origem sanitária são direcionados previamente ao sistema de fossa séptica e, na sequência, são bombeados à ETE para serem tratados juntamente com os efluentes industriais. A borra flotada no flotador e o lodo estabilizado recolhido no leito de secagem são dispostos no solo de fazendas da região como forma de adubação de culturas.

Foram escolhidos o efluente do flotador (efluente primário) e o da unidade de lodos ativados (efluente secundário) por possuírem características distintas, principalmente de nitrogênio e fósforo, pertinentes à avaliação no cultivo de microalgas.

5.3.2. Inóculo

Foi adicionado inóculo de 10% (v/v) coletado de LATs aplicadas ao tratamento de efluente doméstico após reator anaeróbio. Tanto as LATs quanto o reator anaeróbio do tipo UASB que as precede estão localizados na Unidade

Experimental Integrada de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Violeira, mantida e operada pela UFV, em parceria com o Serviço Autônomo de Água e Esgotos (SAAE – Viçosa).

Razões de inóculo como esta foram utilizadas para o cultivo de algas verdes em efluentes de laticínios e doméstico, com suplemento de CO₂ (WOERTZ et al., 2009); *Chlorella* sp. em efluente de laticínio anaerobiamente digerido (WANG, Li, et al., 2010); *Scenedesmus obliquus* em esgoto doméstico (ARBIB et al., 2013); entre outros. O presente estudo diferencia-se pelo fato de não buscar a produção de uma monocultura de microalgas. A Figura 8 apresenta o reator UASB e as LATs acima citados.



Figura 7. (A) Reator anaeróbio UASB que precede (B) as LATs na Unidade Experimental Integrada de Tratamento de Esgotos e Utilização de Efluentes da Violeira.

5.4. Monitoramento do fotobiorreator

Cada meio de cultivo foi avaliado durante três operações *outdoor* do FBR, que foram realizadas em batelada. Os três tubos de acrílico possuíam dimensões idênticas e foram operados simultaneamente com o mesmo meio de cultivo, mistura, suplemento de CO₂ e porcentagem de inóculo (10%), a fim de representarem um único sistema de tratamento. A operação foi interrompida quando a concentração de feofitina superou a concentração de clorofila-*a* por dois dias consecutivos. Na operação seguinte, o meio de cultivo foi substituído e novo inóculo foi adicionado.

A radiação solar fotossinteticamente ativa (PAR) incidente (400 – 700 nm) e oxigênio dissolvido (OD) foram medidos em campo três vezes ao dia, às 6:30, 12:00 e 17:30 horas. A PAR foi medida por meio do radiômetro LICOR – LI-193 *Underwater Spherical Quantum Sensor* e OD com uso de sonda da marca Hach, modelo HQ40d (Luminescent Dissolved Oxygen) para oxigênio dissolvido. O pH e a temperatura foram monitorados em tempo real, como descrito no tópico 5.2.

O meio de cultivo foi coletado de forma composta diariamente às 17:30 horas. Para tanto, amostras simples de 300 mL coletadas de cada tubo foram misturadas em um recipiente maior e a amostra composta foi então acondicionada para análises. As análises físicas e químicas seguiram essencialmente as disposições do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005): alcalinidade total (2330–Alc B), demanda química de oxigênio (5220–DQO D) e demanda química de oxigênio filtrada (5220–DQOf D – amostra filtrada a 0,45 µm), sólidos suspensos totais (2540–SST D) e voláteis (2540–SSV E), nitrato (4500–NO₃ E), nitrito (4500–NO₂ B), nitrogênio amoniacal (4500–NH₃ C), nitrogênio total kjeldahl (4500–Norg C), fósforo total (4500–FT D) e fósforo solúvel (4500–FS D – amostra filtrada a 0,45 µm). O N-Norg foi determinado por diferença entre o N-NTK e N-NH₄⁺. O carbono total dissolvido (CT) é representado pela soma do carbono orgânico dissolvido (COD) e carbono inorgânico dissolvido (CI). Tais variáveis foram analisados pelo equipamento TOC 5000 Shimadzu.

A variável SSV foi utilizada como medida indireta da concentração de biomassa total (algas, bactérias e outros) ao final das operações. O desenvolvimento de microalgas foi acompanhado pelo monitoramento da clorofila-a e feofitina de acordo com NUSH (1980), modificado segundo a Norma Holandesa (NEDERLANDS NORM NEN 6520,1981).

5.5. Comunidade fitoplanctônica

Amostras (20 mL) dos inóculos e do meio de cultivo ao final de cada operação foram coletadas para a caracterização fitoplanctônica, que foi realizada em nível de gênero, e para o gênero dominante, foram identificadas as espécies

presentes. As análises foram realizadas pela Dra. Adriana Cristina Poli Miwa, do laboratório Biotace da Escola de Engenharia de São Carlos.

5.5.1. Análise qualitativa

As amostras foram preservadas com solução de formol 4%. A identificação foi feita em microscópio invertido (Olympus CK2), pelo método de UTHERMÖL (1958). As características morfológicas e morfométricas da vida vegetativa e reprodutiva de valor taxonômico para as espécies foram analisadas de acordo com bibliografia especializada.

5.5.2. Análise quantitativa

Devido à alta densidade de organismos nas lagoas, foi realizada a diluição de 1:50 das amostras antes da quantificação. A contagem dos organismos foi realizada em câmaras de sedimentação de 2 mL de volume como descrito em UTHERMÖHL (1958), em microscópio invertido OLYMPUS CK2. A densidade total do fitoplâncton (indivíduos/mL) foi calculada segundo a Equação 1:

$$D = \frac{C_{org} \times A_t}{A_f \times F \times V_s} \quad \text{Equação 1}$$

Sendo: D: densidade total (indivíduos/mL); C_{org} : número de organismos contados; A_t : área total do fundo da câmara de sedimentação (mm^2); A_f : área do campo de contagem (mm^2); F: número de campos contados; V_s : volume da amostra sedimentada (mL).

5.6. Quantificação lipídica

O conteúdo lipídico foi avaliado no final de cada batelada, por meio da extração via solvente. As etapas do processo estão indicadas na Figura 9. A biomassa foi concentrada em centrífuga refrigerada de alta rotação (Hitachi CR 21 GII, rotor R10A3), a 10.000 rpm e 15°C, 10.000 rpm por 3 minutos. Após concentração, a biomassa foi submetida à estufa a 50 ± 10 °C por 12 horas. A biomassa seca foi macerada e mantida em dessecador para pesagem em balança de precisão 0,1g. Para o rompimento celular e liberação dos lipídios, foram adicionados 5 mL de HCl 3M, 4 mL de éter de petróleo e 25 mL de metanol. A mistura foi então levada a aquecimento em chapa aquecedora por 15 minutos a 50°C. Procedeu-se a 3 extrações via solvente em funis de

separação com adições de 10 mL, 20 mL e 10 mL de éter de petróleo na primeira, segunda e terceira extração, respectivamente. O éter de petróleo foi escolhido, pois é um solvente orgânico menos polar, característica que permite a extração de lipídios de maior interesse para a produção de biodiesel e menos impurezas, pigmentos e lipídios não neutros, se comparado ao clorofórmio (ASSEMAN Y et al., 2013).

Após a extração, o óleo + solvente foi lavado com acetado de chumbo (10 mL, a 4%) para a retirada de impurezas e pigmentos. Em seguida, o óleo foi quantificado por gravimetria, com a evaporação de solvente em chapa aquecedora (50°C) e posterior secagem em estufa por 2 horas a 105°C. A determinação do teor lipídico foi feita em duplicata.

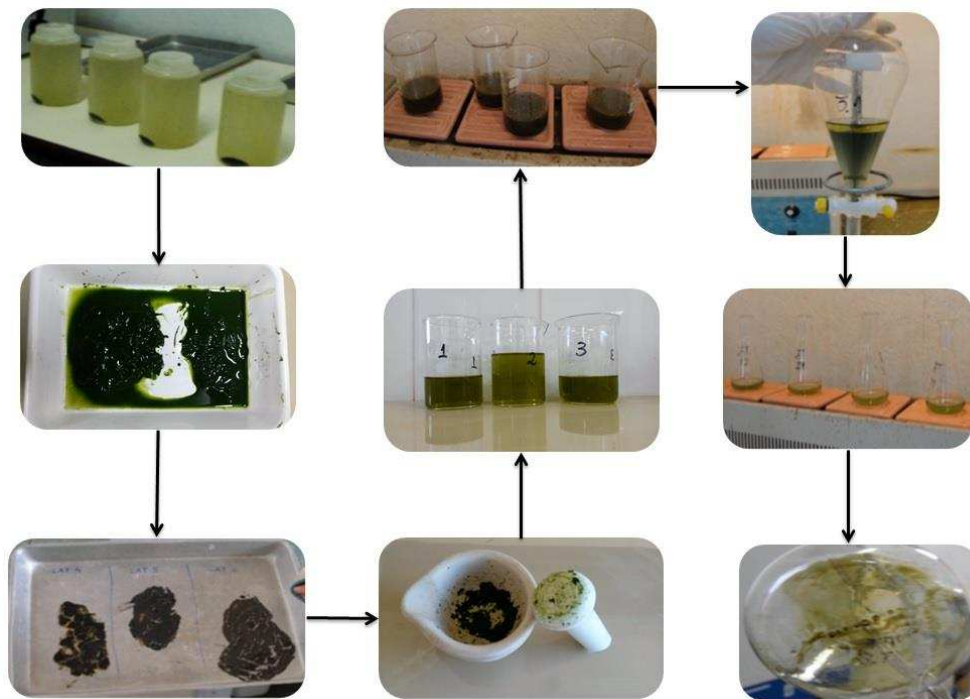


Figura 8. Etapas da quantificação lipídica.

O teor lipídico (% de lipídios na biomassa seca) foi determinado de acordo com a Equação 2:

$$\text{Teor lipídico (\%)} = \frac{m_{rc} - m_{rv}}{m_{bs}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde m_{rc} é a massa do recipiente cheio (g); m_{rv} é a massa do recipiente vazio (g) e m_{bs} é a massa da biomassa seca (g).

A produtividade lipídica foi obtida pelo produto da produtividade de biomassa total (mg SSV/L.d e/ou g SSV/m².d) pelo teor lipídico, obtidos em cada operação.

5.7. Análise energética

O desempenho energético do sistema operado com ambos os efluentes foi avaliado em termos da produtividade específica de biomassa, P_B/E_C (mg/kJ), definida como a produtividade de biomassa (P_B , mg/L.d) por *input* energético (E_C , kJ/L.d) (KETHEESAN et al., 2012; PEGALLAPATI et al., 2014) e pela taxa energética líquida (*Net Energy Ratio*, NER), que relaciona a energia total produzida e a energia total consumida pelo sistema, de acordo com a Equação 3 (JORQUERA et al., 2010; FENG et al., 2011; OZKAN et al., 2012; ZHU et al., 2014b):

$$NER = \frac{\sum \text{Energia produzida}}{\sum \text{Energia consumida}} \quad \text{Equação 3}$$

A energia produzida pode ser aferida em termos do conteúdo energético total da biomassa ou apenas em relação ao seu conteúdo lipídico. Como a operação do sistema foi realizada *outdoor*, considerou-se apenas o consumo energético advindo da agitação do meio de cultivo.

Quantificação do consumo energético

O consumo energético em cada operação (C_{OP} , kWh) foi determinado de acordo com a Equação 4:

$$C_{OP} = \frac{24 \times P_t \times T}{1000} \quad \text{Equação 4}$$

Onde P_t é a potência do compressor de ar diafragmático, em W e T é a duração da operação, em dias.

Já que cada operação durou entre 6 e 9 dias, considerou-se a realização de 3 operações mensais para o cálculo do consumo energético anual (C_T , kJ/ano), como demonstra a Equação 5:

$$C_T = C_{OP} \times (3 \times 12) \times 3600 \quad \text{Equação 5}$$

Quantificação da energia produzida pela biomassa total

A produção anual de energia a partir da biomassa (E_B , kJ/ano) foi determinada a partir da produção anual de biomassa e considerando, assim como JORQUERA et al. (2010), que 100 toneladas de biomassa fornece aproximadamente 3155,30 GJ de energia, de acordo com a Equação 6:

$$E_B = \frac{P_{B,anual} \times 3155,4 \times 1000000}{100000} \quad \text{Equação 6}$$

Onde $P_{B,anual}$ é a produção anual de biomassa (kg/ano).

Quantificação da energia produzida a partir dos lipídios totais

A produção anual de energia a partir do conteúdo lipídico da biomassa (E_L , kJ/ano) foi determinado a partir da produção anual de lipídios e considerando que o conteúdo energético de 1 L de lipídios equivale a 35.133,33 kJ e que a densidade de lipídios totais é aproximadamente 0,9 kg/L (JORQUERA et al., 2010), de acordo com a Equação 7:

$$E_L = \frac{P_{L,anual}}{900} \times 35133,33 \times 1000 \quad \text{Equação 7}$$

Onde $P_{L,anual}$ é a produção anual de lipídios (kg/ano).

A NER a partir da biomassa total e apenas do lipídio foram comparadas entre os efluentes e com os resultados da literatura para diversos sistemas e meios de cultivo de microalgas.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização do Meio de Cultivo

A Tabela 3 apresenta o resultado das variáveis físicas e químicas dos efluentes primário e secundário utilizados como meios de cultivo de microalgas.

Tabela 3. Caracterização dos efluentes utilizados como meio de cultivo.

	Efluente primário			Efluente secundário		
	OPR 1	OPR 2	OPR 3	OPR 4	OPR 5	OPR 6
pH	5,2	5,6	6,5	7,6	7,6	7,4
Alc (mg CaCO ₃ /L)	207,1	152,3	221,9	262,2	174,2	90,4
OD (mg O ₂ /L)	3,3	2,7	2,2	4,7	3,1	5,4
Temperatura (°C)	29,0	29,0	26,2	25,7	26,3	20,2
DQO total (mg/L)	346,0	347,1	350,9	99,3	99,4	88,0
DQO filtrada (mg/L)	345,4	342,2	274,6	63,1	48,9	78,0
N-NH ₄ (mg/L)	22,8	23,1	3,7	62,5	18,3	13,5
N-NTK (mg/L)	106,5	96,6	48,5	68,9	21,8	15,2
N-Norg (mg/L)	83,7	73,5	44,9	6,4	3,5	1,7
N-NO ₃ (mg/L)	6,1	2,4	1,2	1,2	0,2	2,1
N-NO ₂ (mg/L)	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
PT (mg/L)	8,8	2,5	12,0	1,7	1,8	1,1
PS (mg/L)	6,0	1,6	5,5	0,7	0,6	0,3
SST (mg/L)	588,3	381,3	668,3	67,0	77,5	44,3
SSV (mg/L)	560,3	333,8	588,3	43,0	67,5	32,9
COD (mg/L)	236,6	125,8	170,0	28,1	18,1	14,4
CT (mg/L)	245,3	132,1	177,0	78,1	50,9	31,6
N/P*	4,8	16,1	0,9	91,0	30,8	52,0

*N/P: considerou-se o nitrogênio nas formas de N-NH₄⁺; N-NO₃⁻ e N-NO₂⁻ e o PS no meio. OPR: operação.

Apesar da ampla variabilidade da composição física e química registrada nas operações de cada efluente, características tais como as concentrações de nitrogênio e fósforo foram distintas (em relação à origem do efluente) e passíveis de avaliação no cultivo de microalgas. Como esperado, devido a maior depuração proporcionada pelo sistema de lodos ativados, verificou-se a menor concentração de material orgânico, fósforo e sólidos suspensos no efluente secundário em relação ao primário.

6.1.1. Matéria orgânica

A DQO total registrada em ambos os efluentes pouco variou, com média de $348,0 \pm 2,1$ mg/L no efluente primário e $95,6 \pm 5,3$ mg/L no efluente secundário. Tais valores foram consideravelmente inferiores aos reportados por LI et al. (2013) em um efluente composto por carcaças de animais previamente digerido anaerobiamente ($78,3 \cdot 10^3$ mg DQO/L).

A fração solúvel da matéria orgânica foi representada pela concentração de COD e DQO filtrada. Foi observado que a fração de COD representada no CT foi menor no efluente secundário (35-46%, contra 78-99% no primário), indicando que houve boa degradação da matéria orgânica do tratamento de lodos ativados. WANG et al. (2010) verificaram que a matéria orgânica existente em um efluente municipal pós lodos ativados era composta na sua maior parte por material inerte, que não pôde ser utilizado por algas. Considerando a imensa variabilidade metabólica existente entre as diversas espécies de microalgas, a elevada concentração de carbono orgânico é particularmente importante em condições de ausência de luz. De acordo com BECKER (1994), gêneros como *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp., algas reconhecidas como preferencialmente fotoautotróficas, podem sobreviver em condições de heterotrofia, utilizando algumas formas de carbono orgânico na ausência de luz, desde que haja quantidade suficiente de carbono inorgânico no meio de cultivo (CHO et al., 2011).

6.1.2. Nitrogênio

O nitrogênio é um importante nutriente para a produção de microalgas, podendo ser assimilado através de varias fontes, como $N-N_2$, $N-NH_4^+$, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$, ureia, aminoácidos, purinas e pirimidinas (PEREZ-GARCIA et al., 2011). No presente estudo, verificou-se que a maior parte do N-NTK presente no efluente primário corresponde à fração orgânica (N-Norg). A situação oposta ocorre em relação às formas de nitrogênio existentes no efluente secundário, em que grande parte do N-NTK presente corresponde ao nitrogênio amoniacal ($N-NH_4^+$).

De acordo com PEREZ-GARCIA et al. (2011), o nitrogênio é preferencialmente assimilado na ordem: $N-NH_4^+ > N-NO_3^- > N-NO_2^- > \text{ureia}$.

Gêneros como *Chlorella* sp. e *Dunaliella* sp. podem utilizar uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos de nitrogênio, como ureia e sais de nitrato, respectivamente. As espécies *Nitzschia laevis*, e *Phaeodactylum tricornutum* exibem a preferência por nitrato ou ureia ao invés de N-NH_4^+ quando o pH é reduzido. Porém quando há controle de pH, N-NH_4^+ é a fonte de nitrogênio preferencial (PEREZ-GARCIA et al., 2011). Além disso, deve se considerar que comparado a outras fontes de nitrogênio, a assimilação de N-NH_4^+ requer menos energia (PEREZ-GARCIA et al., 2011).

Registrou-se ampla variação da concentração de N-NH_4^+ em ambos os efluentes avaliados abrangendo valores de 3,7 à 23,1 mg/L (efluente primário) e de 13,5 à 62,5 mg/L (efluente secundário). Concentração de N-NH_4^+ acima de 28 mg/L, considerada inibitória para a produção de microalgas em $\text{pH} > 8,5$ (SUTHERLAND et al., 2014), foi registrada na OPR 4 (62,5 mg/L). Contudo, neste estudo, a suplementação de CO_2 assegurou valores de pH menores que 8. Dois dos três registros de N-NH_4^+ do efluente secundário (OPR 5 e OPR 6) se adequaram aos requisitos de lançamento de efluentes da CONAMA 430/2011 (limite de 20 mg N-NH_4^+ /L).

Em geral, o N-NO_2^- foi nulo e os maiores valores de N-NO_3^- foram registrados no efluente primário. A assimilação de N-NO_3^- requer o transporte deste pela membrana celular e sua redução à N-NH_4^+ , o que demanda energia, carbono e prótons, resultando na elevação do pH do meio de cultivo, o oposto do verificado pela assimilação direta de N-NH_4^+ (PEREZ-GARCIA et al., 2011).

6.1.3. Fósforo

Tão importante quanto o nitrogênio no cultivo de microalgas, o fósforo é um elemento essencial para que ocorra a transferência de energia e biossíntese de DNA (CHO et al., 2011). No meio de cultivo, o PS pode ser encontrado na forma de fosfatos e polifosfatos. Contudo, compostos como os fosfatos de cálcio e de ferro formam complexos indisponíveis para as algas, sendo necessária a presença de fósforo solúvel em excesso para sua assimilação. Nesta condição, as microalgas absorvem até 16 vezes mais do que sua necessidade mínima (assimilação de luxo), o que garante o

crescimento da célula mesmo em períodos de privação desse nutriente (CHISTI, 2007; LOURENÇO, 2006). Nesse estudo, a deficiência de fósforo solúvel é verificada principalmente no efluente secundário, com valores inferiores a 1 mg PS/L. Após o tratamento secundário de efluente municipal, SHI et al. (2014) verificou $0,61 \pm 0,20$ mg P-PO₄ mg/L. Em alguns casos, a deficiência de fósforo no meio gera uma situação de estresse fisiológico, que pode resultar nas diminuições do crescimento celular e da produção de clorofila (LI et al., 2014; LOMBARDI & WANGERSKI, 1991), assim como pode ainda afetar o conteúdo e o perfil lipídico da célula (SIRÓN et al., 1989).

6.1.4. Relação N/P

Verificou-se que a razão N/P foi consideravelmente elevada principalmente pela limitação de fósforo solúvel no efluente secundário. Valor de N/P semelhante ao registrado no efluente secundário durante a OPR 6 (52,0) foi verificado por WANG et al. (2010) em um efluente municipal após o tratamento em tanque de aeração (53,2), indicando mais uma vez a limitação de fósforo no meio. Estudos como os de DARLEY (1982), REYNOLDS (1984) e MARTIN et al. (1985) sugeriram que a relação ótima de N/P para o crescimento de algas em água doce se situa na faixa de 6,8-10. Apenas o efluente primário utilizado na OPR 1 (N/P: 4,8) e OPR 2 (N/P: 16,1) apresentaram relação próxima ao ótimo sugerido por tais autores. Analogamente, WANG et al. (2010) verificaram N/P de 5,9 e 4,7 nos efluentes municipais antes e após o tratamento primário, respectivamente.

6.1.5. Sólidos suspensos

Elevada variabilidade e concentração dos sólidos suspensos totais foram observadas no efluente primário ($545,9 \pm 121,0$ mg SST/L). Valores semelhantes foram registrados por QUEIROZ et al. (2013) em um efluente do processamento de peixes ($418 \pm 187,2$ mg SST/L). A elevada concentração de sólidos suspensos pode reduzir a penetração de energia solar. Já a baixa concentração de sólidos suspensos pode incorrer em fotoinibição (ZHU et al., 2013), muito frequente em sistemas de cultivo com elevada superfície de iluminação. Associado às partículas de sólidos, podem estar aderidos microrganismos como bactérias, que podem resultar em incremento ou

redução da produção de microalgas, dependendo das condições de cultivo ou espécies relacionadas. CHO et al. (2011) verificaram a inibição do crescimento de *Chlorella* sp. 227 por bactérias agregadas aos sólidos suspensos presentes no meio, o que resultou na limitação da penetração de luz e na redução da disponibilidade de nutrientes para o seu cultivo. Para evitar tal interferência, os autores optaram por remover os sólidos suspensos e a biomassa existente no efluente através de filtração e radiação UV-B. Experimentos preliminares desenvolvidos por WOERTZ et al. (2009) indicaram que o baixo crescimento de consórcio de algas verdes e diatomáceas em efluente de laticínio estava possivelmente associado à opacidade do meio de cultivo. Portanto, para otimizar as condições de cultivo nos experimentos subsequentes, tais autores aplicaram diluições de 10 e 25% ao efluente em questão. Ainda que a adequação das condições de cultivo - como a aplicação de diluições ou a utilização de meios de cultivos artificiais - resultem em um controle muitas vezes necessário a determinadas avaliações, de acordo com RUIZ-MARTINEZ et al. (2012), são escassas as informações obtidas a partir da avaliação do cultivo de microalgas em efluentes reais.

6.1.6. Alcalinidade, pH e temperatura

Essas variáveis influenciam e são influenciadas por diversos processos em um FBR. A alcalinidade, por exemplo, evita alterações bruscas de pH, como o seu aumento pela assimilação de CO₂ via fotossíntese (RUIZ-MARTINEZ et al., 2012). Ambos os efluentes apresentaram alcalinidade instável, de 193,8 ± 29,9 mg CaCO₃/L no efluente secundário e de 175,6 ± 70,1 mg CaCO₃/L no efluente primário. SANTIAGO et al. (2013) utilizaram como meio de cultivo de microalgas um efluente municipal anaerobiamente digerido com alcalinidade semelhante ao verificado neste estudo (221,0 ± 71 mg CaCO₃/L).

O pH divergiu apenas em relação à origem do efluente, com valores abaixo de sete no efluente primário e próximos à neutralidade no efluente secundário. Valores médios de pH semelhantes ao verificado no efluente secundário (7,5 ± 0,1), foram registrados em efluente do processamento de peixes (7,67 ± 0,3, QUEIROZ et al., 2013) e em efluente municipal

previamente digerido ($7,1 \pm 0,4$, SANTIAGO et al., 2013). RODRIGUES et al. (2014), por outro lado, registraram o valor de $5,9 \pm 0,05$ em efluente de abatedouro, semelhante ao observado no efluente primário avaliado neste estudo ($5,7 \pm 0,6$).

Efluentes industriais podem apresentar grande variação da temperatura. Contudo, tal característica não foi verificada no efluente primário ($28,1 \pm 1,6$ °C) e secundário ($24,1 \pm 3,4$ °C).

6.2. Composição fitoplanctônica do inóculo

As características dos inóculos utilizados nas OPR 1-6 como o gênero dominante da comunidade fitoplanctônica e sua densidade são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Características do inóculo adicionado nas OPR 1-6.

Amostra	Gênero	Densidade total (indivíduos/mL)	Observações
OPR 1/2	<i>Scenedesmus</i> sp. (<i>Scenedesmus accuminatus</i> e <i>Scenedesmus arvensis</i>)	$3,5 \cdot 10^6$	Elevada densidade de levedura e bactérias
OPR 3	<i>Scenedesmus</i> sp.	$1,2 \cdot 10^6$	Presença de leveduras e bactérias
OPR 4		$1,9 \cdot 10^6$	
OPR 5		$6,6 \cdot 10^5$	
OPR 6	<i>Scenedesmus</i> sp. (células livres)	$1,6 \cdot 10^6$	Elevada densidade de bactérias

Grande parte dos estudos sobre a produção de microalgas em efluentes utilizam como inóculos monoculturas de microalgas (MARKOU et al., 2012; ARBIB et al., 2013; LIM et al., 2013), monocultura/consórcio de microalgas isolados de efluentes (DE GODOS et al., 2010; WOERTZ et al., 2010; YANG et al., 2011; RUIZ-MARTINEZ et al., 2012) ou corpos d'água (LI et al., 2014). No presente estudo, é importante salientar que o inóculo não constituiu uma cultura plenamente conhecida. A identificação dos gêneros e, principalmente, sua contagem foram dificultadas pela elevada concentração de microrganismos como leveduras e bactérias presentes nas amostras. Estudos demonstraram as vantagens do cultivo de consórcio de microalgas-bactérias (DE-BASHAN et al., 2002) e microalgas-fungos (CHEIRSILP et al., 2011) em

efluentes. A produção de microalgas em consórcio com outros microrganismos pode reduzir os custos da produção de biocombustíveis, já que apresenta vantagens como a menor influência das flutuações ambientais, facilidade de separação e processamento da biomassa (PIRES et al., 2013). Por outro lado, a competição entre algas e bactérias por nutrientes e espaço pode representar um fator negativo para a produção de microalgas e acúmulo de lipídios (PECCIA et al., 2013). No presente estudo, não é claro a real influência desses microrganismos no desempenho dos cultivos avaliados.

Em todos os inóculos, o gênero *Scenedesmus* (Chlorophyceae) foi identificado como o gênero dominante da comunidade fitoplanctônica e foi apenas possível identificar espécies (*Scenedesmus accumnatus* e *Scenedesmus avernsis*) nas amostras do inóculo adicionado nas OPR 1 e 2, as quais possuíam a maior densidade do gênero (ambas de $3,5 \cdot 10^6$ indivíduos/mL). O gênero *Scenedesmus* (*Scenedesmus accumnatus*) foi também identificado por MAGALHÃES (2011) em lagoas de estabilização que tratavam efluente doméstico anaeróbio advindo da mesma unidade de tratamento (reator UASB) que precedia as LATs onde foram coletados os inóculos para o presente estudo. Tal autora reportou que o gênero *Scenedesmus* foi juntamente com o gênero *Euglena* (Euglenophyceae) os mais representativos da comunidade fitoplanctônica, totalizando 9 espécies cada. Assim como *Scenedesmus*, os gêneros *Chlorella* e *Spirulina* são comumente aplicados à remoção de nutrientes em efluentes (RENUKA et al., 2013).

Com exceção da OPR 5, a qual se adicionou inóculo com densidade menor de indivíduos (*Scenedesmus*) ($6,6 \cdot 10^5$ indivíduos/mL), os demais inóculos utilizados no presente estudo apresentaram densidades entre $1,2 \cdot 10^6$ (OPR 3) e $3,5 \cdot 10^6$ indivíduos/mL (OPR 1 e 2) de *Scenedesmus*. De acordo com WANG et al. (2010), em geral, quanto maior a densidade do inóculo, melhor o crescimento de microrganismos e maior a remoção de nutrientes quando não há a ocorrência de problemas como o autossombreamento, exaustão de nutrientes, competição interespecífica, entre outros. Todavia, dentre as densidades de *Chlorella vulgaris* avaliadas no tratamento de efluente primário (baixa – 10^5 ; média – 10^6 e elevada – 10^7 células/mL), LAU et al.

(1995) não verificaram taxas de crescimento significativamente diferentes e, com exceção da densidade baixa, as remoções de nutrientes foram equivalentes.

Todos os inóculos apresentaram concentração de clorofila-*a* de aproximadamente $1,3 \pm 0,6$ mg/L e foram adicionados no sistema à 10% ($V_{\text{inóculo}}/V_{\text{útil reator}}$).

6.3. Caracterização das Condições ambientais

Dentre as condições ambientais influentes no crescimento fotoautotrófico de microalgas destacam-se as horas de iluminação, a qualidade e a intensidade de luz, a temperatura e os níveis de CO₂ e oxigênio no meio de cultivo (UGWU et al., 2007; MONCADA et al., 2014).

A Figura 9 apresenta a PAR incidente às 12:00 horas no FBR ao longo das operações.

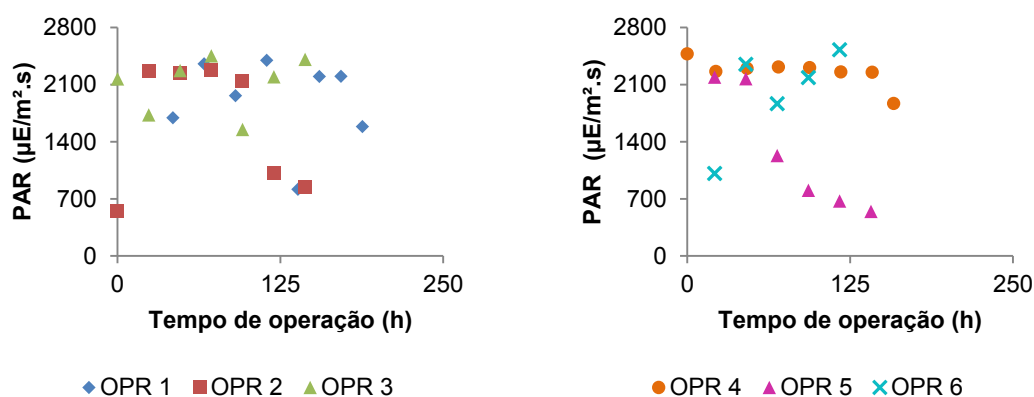


Figura 9. PAR incidente no FBR medida às 12:00 horas durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Tanto nos sistemas de cultivo *indoor* quanto no *outdoor*, a intensidade, fonte e regime de iluminação determinam a atividade microbiana em FBRs (UGWU et al., 2007; CHEN et al., 2011). Como a iluminação artificial implica em custos operacionais, a luz solar é frequentemente utilizada como fonte de energia para o cultivo de microalgas (CHISTI, 2007). Em geral, o aumento da PAR ocasiona a melhoria da eficiência fotossintética das células até determinados níveis, em que o aparato fotossintético torna-se saturado, com subsequente redução do metabolismo celular, em um fenômeno conhecido por

fotoinibição (KAJIWARA et al., 1997). Ainda assim, HUANG et al. (2012) citam que as zonas tropical e sub-tropical são ideais para o cultivo energético de microalgas, pois, se comparadas às zonas temperadas, possuem temperatura mais estável durante todo o ano e são expostas à maiores períodos de radiação durante o dia.

Nesse estudo, as duas primeiras operações foram realizadas no final do período de inverno (01/09/2014 à 18/09/2014) e as demais foram realizadas durante a primavera (25/09/2014 à 22/11/2014). Com exceção da operação 4, que apresentou valores médios de PAR estáveis ($2254 \pm 172 \mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$), foram registradas amplas variações da PAR durante as demais operações: 1902 ± 529 (OPR 1), 1797 ± 777 (OPR 2), 2101 ± 342 (OPR 3), 1269 ± 743 (OPR 5) e $1987 \pm 578 \mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ (OPR 6). SANTIAGO et al. (2013) verificaram produtividade de microalgas de $11,4 \text{ g SSV}/\text{m}^2.\text{d}$ em LATs *outdoor* operadas sob condições de radiação semelhantes.

Além da disponibilidade luminosa, cultivos *outdoor* são influenciados pela variação sazonal da temperatura. A Figura 10 apresenta a temperatura dos meios de cultivo ao longo do período das operações.

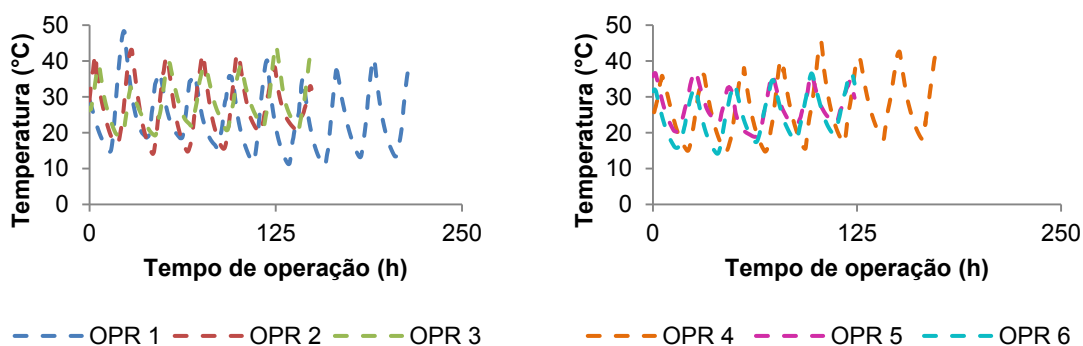


Figura 10. Temperatura durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Foram registradas temperaturas de 11 a 48 °C (OPR 1), 14 a 43 °C (OPR 2), 19 a 44 °C (OPR 3), 15 a 45 °C (OPR 4), 19 a 37 °C (OPR 5) e 14 a 37 °C (OPR 6). Como consequência das elevadas temperaturas, em dias muito quentes, foi observado o efeito chamado *biofouling*, em que as células ficam aderidas ao recipiente do FBR, como reportado por ARBIB et al. (2013) em FBR do tipo *airlift*. De acordo com HARRIS et al. (2013), a extensão e gravidade do *biofouling* depende não somente da temperatura, mas também

do material utilizado na construção do reator, das condições de mistura, das características do efluente utilizado e das espécies predominantes. O grau do fenômeno no presente estudo foi reduzido e, portanto, consequências negativas – como aumento do arraste, diminuição da fluabilidade, degradação ou corrosão da superfície, função prejudicada e elevados custos associados à manutenção, reparo e/ou substituição de equipamentos – não foram verificadas.

Dentre outros fatores, as condições de radiação solar e temperatura têm influência direta na concentração de oxigênio dissolvido no meio de cultivo.

A Figura 11 apresenta o OD dos meios de cultivo ao longo do período das operações.

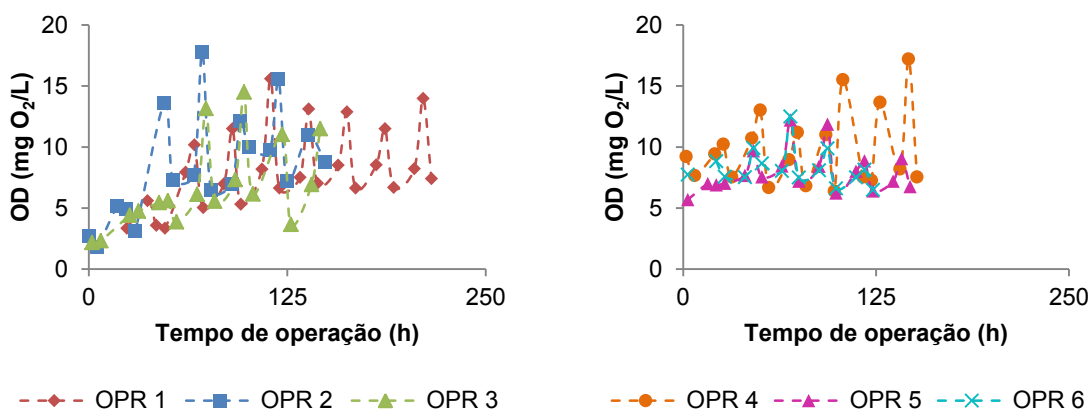


Figura 11. OD durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

O OD no meio de cultivo em FBR do tipo coluna de bolhas está relacionado tanto ao ar injetado para a suspensão das células quanto à atividade fotossintética e, por isso, também atrelado à radiação solar. Verificou-se que o comportamento do OD foi similar ao da PAR e temperatura ao longo das operações, alcançando valores máximos de 16 mg/L (OPR 1), 18 mg/L (OPR 2), 14,5 mg/L (OPR 3), 17 mg/L (OPR 4), 12 mg/L (OPR 5) e 12,5 (OPR 6) em dias com ambas as variáveis elevadas, provavelmente resultado de maior atividade fotossintética. Os valores mais baixos registrados ao longo das operações – 3,34 mg/L (OPR 1), 1,81 mg/L (OPR 2), 2,17 mg/L (OPR 3), 6,38 mg/L (OPR 4), 5,69 mg/L (OPR 5) e 6,49 mg/L (OPR 6) - foram medidos ao nascer do sol. Esse fato pode ser resultado da respiração dos microrganismos, da ausência de fotossíntese durante a noite e da ocorrência

de degradação aeróbia de matéria orgânica pelos microrganismos presentes no FBR. Sob a condição de reduzida disponibilidade luminosa, algumas algas como a *Chlorella protothecoides*, *Chlorella minutíssima*, *Scenedesmus bijuga* e *Chlamydomonas globosa* (BHATNAGAR et al., 2011) utilizam o metabolismo heterotrófico, para a assimilação de carbono orgânico (BECKER, 1994).

6.4. Controle do pH com adição de CO₂

Nesse estudo, a suplementação de CO₂ a 6,5% (v/v) se aplicou tanto para suprir a demanda de carbono inorgânico como para o controle de pH entre 6 e 8. O controle de pH minimiza a remoção de nutrientes por processos físico-químicos dependentes do pH – como a volatilização de amônia e a precipitação de fosfatos (PARK & CRAGGS, 2010) – e potencializa a reciclagem de nutrientes por meio da sua assimilação pela biomassa.

A Figura 12 demonstra o comportamento do pH ao longo do tempo de operação.

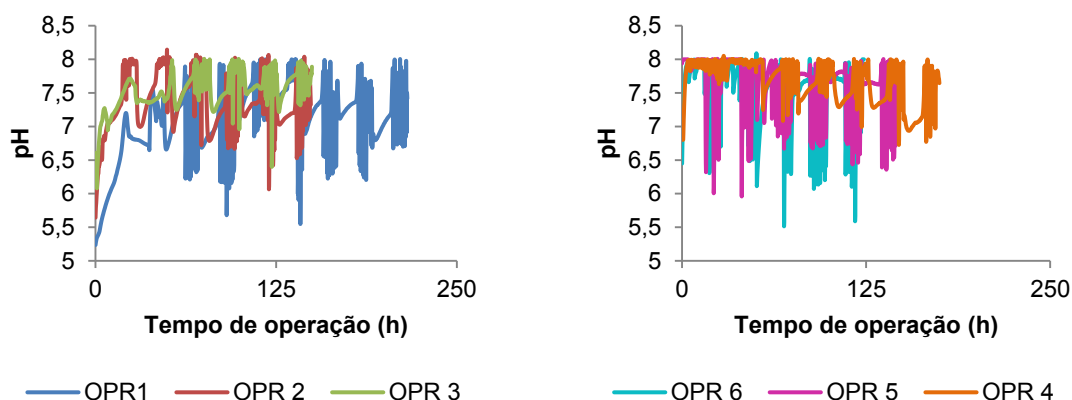


Figura 12. pH durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Desconsiderando o período inicial de cultivo, o comportamento do pH não apresentou diferenças relevantes em relação à origem dos efluentes. Ambos apresentaram amplitude e frequência de adição de CO₂ variáveis durante as operações. Todavia, durante o período inicial de cultivo, o pH do efluente primário levou um tempo maior para atingir 8 ($t > 50$ horas), em contraste com o efluente secundário, que levou no máximo 4 minutos (OPR 6). O incremento vagaroso do pH representa um período de adaptação do inóculo às condições de cultivo e pode estar associado à diversos fatores como o

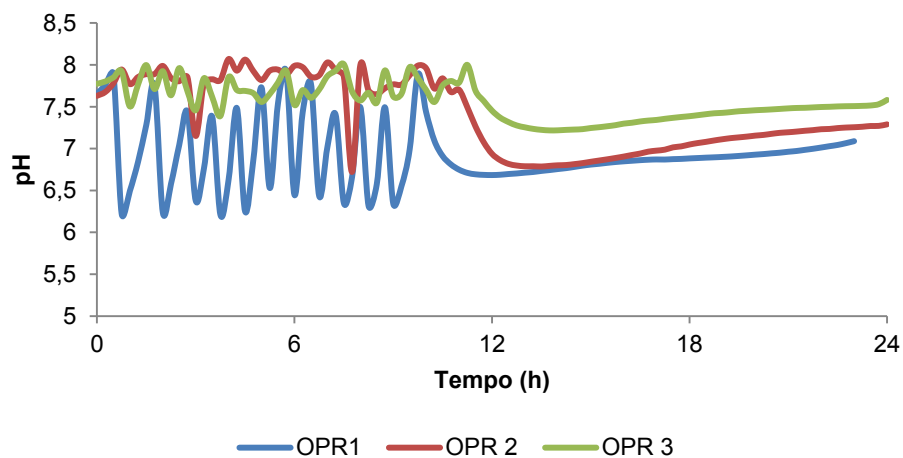
menor valor de pH (< 6,5) e à maior concentração de SSV verificados no efluente primário em relação ao secundário. A variável SSV é reflexo principalmente da existência de material orgânico (como restos de carnes remanescentes do flotador) e está associada à elevada turbidez e opacidade do efluente primário, características indesejáveis em um meio de cultivo de microalgas. Somado a isso, a presença de microrganismos em concentração muito superior à do inóculo – os quais além de obstruírem a passagem de luz, podem ainda competir por nutrientes – limita a produção de microalgas e, conseqüentemente, a atividade fotossintética, um dos processos responsáveis pelo aumento do pH no meio. FERNÁNDEZ et al. (2012) verificaram que em concentrações maiores que 1,0 g/L, a perda de carbono no meio aumentou devido à diminuição da taxa fotossintética e aumento da taxa respiratória. Além disso, a grande diversidade metabólica dos microrganismos presentes no sistema pode também ter refletido no perfil pH. A respiração, por exemplo, libera CO₂ para o meio, reduzindo assim o pH. Como inicialmente existia maior concentração de outros microrganismos em relação ao inóculo, tal processo pode ter sido mais intenso durante as 50 primeiras horas. Além desses, a ocorrência simultânea de processos como a assimilação de N-NH₄ (que reduzem o pH) podem ter contribuído para o incremento vagaroso de pH quando foi utilizado o efluente primário.

A alcalinidade é uma variável relacionada ao poder tamponante de um sistema, ou seja, à sua capacidade de neutralizar a acidez do meio. Espera-se que um sistema com elevada alcalinidade resista melhor às variações de pH do meio. Contudo, em sistemas complexos como os avaliados nesse estudo, tal relação pode não ser determinante. Ainda assim, nas OPR 3 e 4, as quais foram submetidas a PAR semelhantes (2101 ± 342 e 2254 ± 172 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, respectivamente) e cujos efluentes possuíram os maiores valores de alcalinidade (221,9 e 262,2 mg CaCO₃/L, respectivamente), os valores de pH se mantiveram no intervalo de 7 à 8 durante grande parte do período monitorado.

Em todos os casos, a adição de CO₂, realizada apenas quando o pH atingia 8, foi muito variável. Muitas vezes, o sistema permanecia longos períodos de elevada radiação sem a necessidade de adição de CO₂,

principalmente durante as operações com o efluente primário. Tal fato sugere que outros processos além da adição automática de CO_2 - como as já mencionadas respiração (VALDÉS et al., 2012) e assimilação de N-NH_4 (KUMAR et al., 2010) - contribuíram para a redução do pH no meio. O próprio ar comprimido utilizado para a mistura do meio de cultivo possui CO_2 , que quando solúvel pode reduzir ligeiramente o pH.

Percebe-se a grande influência da PAR no perfil de pH. Em dias de radiação elevada, foi observada a maior frequência dos ciclos de adição de CO_2 no meio, fato que pode estar relacionado, dentre outros fatores, à maior taxa fotossintética das microalgas nessas condições. A Figura 13 apresenta um exemplo do comportamento do pH durante um dia de cada operação, das 6:00 da manhã às 6:00 da manhã seguinte. Foi escolhido um dia que representasse a variação do pH ao longo da operação e que fosse de preferência no período intermediário: a partir de 61,50 horas de operação (OPR 1), 65,50 horas de operação (OPR 2), 67,75 horas de operação (OPR 3 e OPR 4), 63,00 horas de operação (OPR 5 e 6).



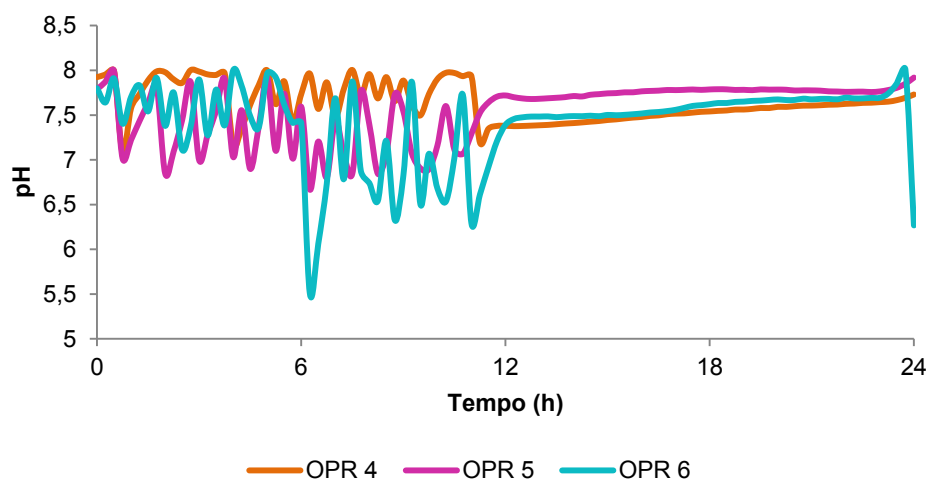


Figura 13. Perfil diário do pH durante as operações com o efluente primário (figura superior) e secundário (figura inferior).

É notável a relação entre os ciclos de adição de carbono e a atividade fotossintética, ilustrada pela diferença entre a maior frequência de adição do gás durante o dia que a noite. Esse comportamento foi também observado por ARBIB et al. (2013) e VALDÉS et al. (2012), que operaram FBR tubulares *airlift* e coluna de bolhas, respectivamente. Esses autores discutem que durante o dia, as microalgas utilizam luz e nutrientes para assimilar o CO_2 , fazendo com que o pH do meio se eleve. Já durante a noite, a atividade fotossintética é reduzida e as algas respiram, liberando CO_2 . Entretanto, o pH ainda aumenta ligeiramente durante a noite. Segundo os mesmos autores, este fato é atribuído ao desprendimento de CO_2 do meio líquido para o ar, promovido pela injeção contínua de ar comprimido no reator. De acordo com VALDÉS et al. (2012), a perda de CO_2 em um FBR coluna de bolhas é função principalmente da taxa de aplicação de ar, assim como dos ciclos de injeção de CO_2 . Durante o dia, a perda de CO_2 pode ser agravada devido à redução de sua solubilidade em temperaturas elevadas (PULZ, 2001). Dispositivos como sistemas de refrigeração para o controle da temperatura (TORZILLO et al., 1986) ou sistemas de recirculação de CO_2 (RUIZ-MARTINEZ et al., 2012) podem diminuir a perda de CO_2 .

6.5. Caracterização da biomassa e da comunidade fitoplanctônica

Na Tabela 5 são apresentadas as características da comunidade fitoplanctônica produzida nos efluentes avaliados.

Tabela 5. Características da biomassa produzida nas OPR 1-6.

Amostra	Gênero	Densidade total (indivíduos/mL)	Observações
OPR 1	<i>Scenedesmus</i> sp. (células livres)	-	Elevada densidade de levedura e bactérias
OPR 2	<i>Scenedesmus</i> sp.	-	Elevada densidade de levedura e bactérias
OPR 3		$2,1 \cdot 10^6$	Presença de leveduras e bactérias
OPR 4		-	Elevada densidade de levedura e bactérias; Células pareciam “murchas”
OPR 5	<i>Scenedesmus Staurastrum</i> (células livres e colônias)	$2,3 \cdot 10^6$	Presença de bactérias
OPR 6	<i>Scenedesmus Staurastrum</i> (células livres)	$3,7 \cdot 10^6$	Ausência de bactérias

Durante as OPR 1, 2 e 4, houve grande desenvolvimento de bactérias e leveduras, o que dificultou a análise fitoplanctônica e impossibilitou a contagem do gênero dominante. Apesar da diferença quantitativa verificada entre os inóculos, as densidades de *Scenedesmus* existentes ao final das OPR 3, 5 e 6, de respectivamente $2,1 \cdot 10^6$, $2,3 \cdot 10^6$ e $3,7 \cdot 10^6$ indivíduos/mL, foram similares. A presença de leveduras e bactérias no inóculo adicionado nas OPR 3 e 4 resultou em duas situações distintas no final de cada operação, com crescimento de bactérias e leveduras menos proeminente durante a OPR 3. Porém, a presença de leveduras e bactérias pode em alguns casos ser vantajosa. CHEIRSILP et al. (2011) avaliaram a produtividade lipídica de culturas mistas de leveduras (*Rhodotorula glutinis*) e microalgas (*Chlorella vulgaris*) em efluentes industriais advindos do processamento de frutos do mar e melaço de cana-de-açúcar. Tais autores reportaram que a produtividade lipídica foi maior na cultura mista do que nas culturas puras, possivelmente devido ao circuito nutricional simbiótico estabelecido entre algas e leveduras – semelhante ao reportado por BECKER et al. (1996) entre algas e bactérias.

De acordo com MUÑOZ & GUIEYSSE (2006), devido ao seu maior tamanho, em geral, as microalgas crescem em taxas menores que bactérias heterotróficas. Apesar de os inóculos das OPR 5 e 6 apresentarem elevada densidade de bactérias, ao final da OPR 5 tais microrganismos foram reduzidos e ao final da OPR 6 não foram verificados nas amostras. Fatores abióticos e bióticos podem influenciar o desenvolvimento de microalgas e bactérias em efluentes como os avaliados no presente estudo. Exemplos de fatores abióticos são a disponibilidade de nutrientes, intensidade luminosa, pH, temperatura, turbulência, turbidez, concentração de oxigênio e CO₂ no meio, entre outros. Em relação à fonte de carbono, por exemplo, observou-se a menor concentração de COD no efluente das OPR 5 e 6, o que pode ter limitado o crescimento de organismos heterotróficos como as bactérias, possibilitando apenas a sobrevivência das microalgas do gênero *Scenedesmus* (mixotróficos). Além disso, a relação entre microalgas e bactérias é um dos fatores bióticos que influenciam o tratamento de efluentes em FBRs e não se limita à simples trocas de CO₂/O₂ (MUÑOZ & GUIEYSSE, 2006). Microalgas podem exercer efeito inibitório no crescimento de bactérias através do aumento do pH e da concentração de OD no meio de cultivo ou pela excreção de metabólitos inibitórios. Por outro lado, há estudos que evidenciaram o aumento da atividade bacteriana pela liberação de compostos extracelulares pelas microalgas. O crescimento de bactérias pode eventualmente promover o desenvolvimento de microalgas pela liberação dos chamados “fatores de promoção de crescimento”. DE-BASHAN et al. (2002), por exemplo, verificaram que a presença de *Azospirillum brasilense* aumentou a remoção de nutrientes por *Chlorella vulgaris*. Por outro lado, algumas bactérias podem liberar metabólitos de efeito algicida, inibindo o desenvolvimento de algas (MUÑOZ & GUIEYSSE, 2006).

Em sistemas complexos como os avaliados no presente estudo, diversos fatores agindo simultaneamente podem incorrer até mesmo na alteração da morfologia celular (observação na OPR 4: “células murchas”) e no arranjo dos microrganismos (livres ou coloniais).

As concentrações de SST e SSV registradas durante o cultivo de microalgas nos efluentes avaliados são apresentadas nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

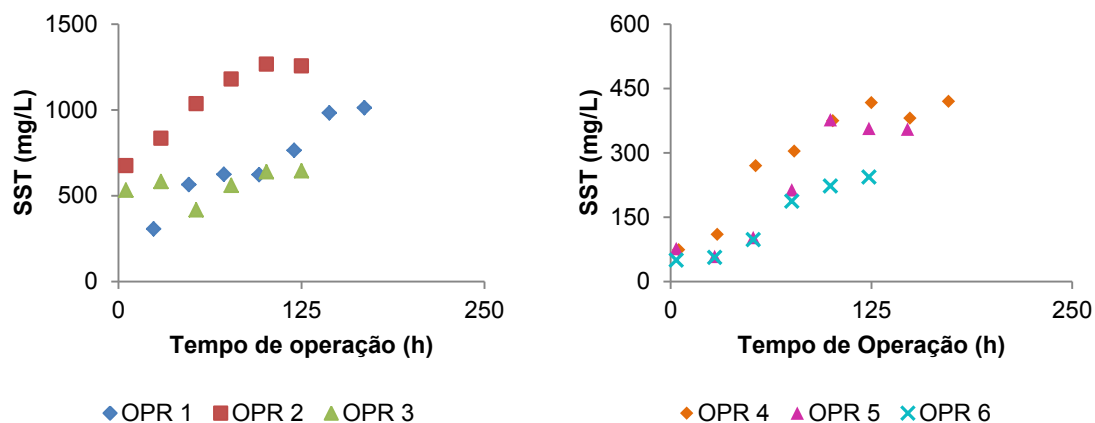


Figura 14. Concentrações de SST registradas durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

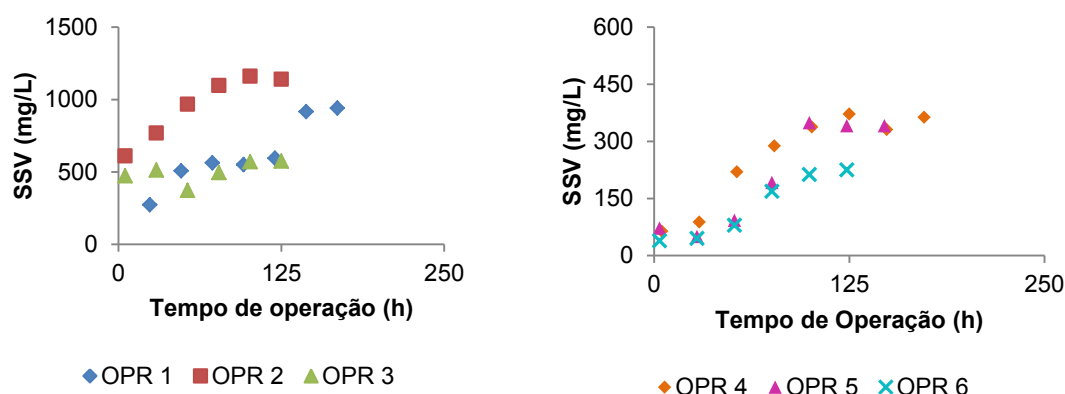


Figura 15. Concentrações de SSV registrados durante o cultivo de microalgas nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

No presente estudo, a variável SSV foi utilizada como medida indireta da concentração de biomassa total ao final das operações. Em geral, a parcela de SSV nos SST foi elevada – 88-89 % (OPR 1), 88-93% (OPR 2), 78-93 % (OPR 3), 74-96 % (OPR 4), 64-95% (OPR 5) e 86-96% (OPR 6) – fato atribuído à constituição dos microrganismos presentes no meio como as algas, bactérias e fungos, assim como matéria orgânica suspensa nos efluentes. Apesar da maior concentração de biomassa verificada no efluente primário – a qual atingiu 1.140 mg/L (OPR 2) – a concentração de SSV apresentou grande instabilidade durante as OPR 1 e 3. A OPR 2 teve início com o rápido

incremento da concentração de SSV e estabilização a partir de 101 horas de operação. Comportamento similar foi observado por CHEIRSILP et al. (2011) através do cultivo de leveduras e microalgas em efluentes advindos do processamento de frutos do mar e melaço de cana-de-açúcar. Fatores como a elevada concentração de matéria orgânica suspensa, como restos de carne, podem ter influenciado na redução da concentração de SSV entre 0 e 53 horas da OPR 3.

Diferentemente, o comportamento da concentração de SSV durante as operações com o efluente secundário apresentou certo padrão. Até às 29 horas, a concentração de SSV foi estável, apresentando incremento até às 100 horas e estabilização em seguida, atingindo concentração máxima de 371,4 mg SSV/L (OPR 4) e mínima de 225,0 mg SSV/L (OPR 6). Comportamento semelhante foi observado por ABOU-SHANAB et al. (2013), através do cultivo de espécies de microalgas em efluente de suinocultura (previamente tratado em nível secundário, filtrado e esterilizado). Os autores verificaram $0,53 \pm 0,30$ g/L após 20 dias de cultivo de *Scenedesmus obliquus*. WOERTZ et al. (2009) observaram o valor máximo de 500 mg SSV/L até o sexto dia de cultivo em um efluente de laticínios previamente digerido e com 10% de diluição. Utilizando efluente municipal secundário autoclavado como meio de cultivo, XIN et al. (2010b) verificaram a concentração máxima de 0,11 g/L de *Scenedesmus* sp. LX1, inferior ao observado no presente estudo. Assim como reportado por XIN et al. (2010b), no presente estudo, a menor concentração de biomassa verificada no efluente secundário em relação ao primário está associada à limitação de fósforo no meio de cultivo.

As concentrações de clorofila-a durante os cultivos nos efluentes primário e secundário avaliados são apresentadas na Figura 16.

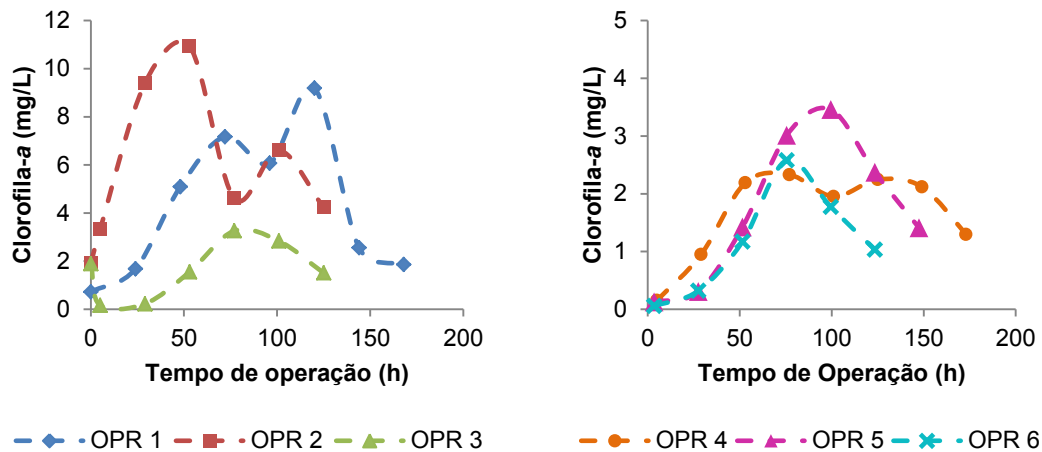


Figura 16. Concentrações de clorofila-a durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

A produção de clorofila-a não necessariamente acompanhou o comportamento de SSV. Além disso, vale destacar que algumas fases de crescimento mais acentuado da clorofila-a não ocorreram necessariamente em dias de maior insolação no sistema. Em sistemas complexos e dinâmicos como os avaliados nesse estudo, pode-se apenas sugerir alguns dos inúmeros fatores possivelmente responsáveis pelo desempenho do sistema em determinado momento. Entre 72 e 101 horas da OPR 1, a estabilidade de SSV acompanhada pelo declínio da clorofila-a, na presença de nutrientes e disponibilidade luminosa, pode estar associada ao sombreamento em condições de elevada densidade de biomassa e outras partículas presentes no efluente (LI et al., 2011). Dentre todas as operações, somente a OPR 3, cujo efluente possuía a maior concentração inicial de SSV, apresentou redução de SSV acompanhada pelo incremento de clorofila-a. Tal comportamento pode estar associado a diversos fatores, que podem ter ocorrido simultaneamente, como o sombreamento, a degradação de matéria orgânica suspensa e a fatores biológicos como a competição de microalgas com outros microrganismos inicialmente presentes no meio de cultivo. O decréscimo da concentração de clorofila-a, acompanhado pela estabilização da concentração de SSV indicou o término das operações, devido ao fato de haver atingido o ponto máximo na curva de clorofila-a.

Observou-se a maior concentração de biomassa total (1.160,0 mg SSV/L, após 101 horas de operação) e a maior concentração de clorofila-a

(10,9 mg clorofila *a*/L, após 53 horas de operação) durante a OPR 2. O cultivo de biomassa em efluente secundário atingiu concentrações de 225 à 371 mg SSV/L nas OPR 6 e 4, respectivamente, e de 2,3 à 3,5 mg/L de clorofila-*a* durante as OPR 4 e 5, respectivamente.

As produtividades de biomassa total verificadas no efluente primário atingiram 134,3 mg SSV/L.d (OPR 1, após 168 horas), 275,6 mg SSV/L.d (OPR 2, após 101 horas) e 110,4 mg SSV/L.d (OPR 3, após 125 horas). O cultivo de microalgas no efluente secundário atingiu as seguintes produtividades de biomassa total: 71,3 mg SSV/L.d (OPR 4, após 125 horas), 84,2 mg SSV/L.d (OPR 5, após 100 horas) e 43,7 mg SSV/L.d (OPR 6, após 124 horas).

As produtividades de biomassa total verificadas no efluente primário são semelhantes às verificadas por MAHAPATRA et al. (2014) (122 mg/L.d) em consórcio de microalgas em FBR utilizando efluente doméstico como meio de cultivo e ZHU et al. (2013) ($106,28 \pm 1,15$ à $296,16 \pm 19,16$ mg SSV/L.d) através da produção de *Chlorella zofingiensis* em FBR coluna de bolhas utilizando diluições de efluentes de suinocultura como meio de cultivo. As produtividades de biomassa total verificadas no efluente secundário são próximas à média verificada por ZHU et al. (2014b) ($66,94 \pm 0,14$ mg/L.d), pelo cultivo de *Chlorella zofingiensis* em FBR coluna de bolhas utilizando efluente artificial como meio de cultivo.

As Figuras 17 à 22 ilustram o comportamento da clorofila-*a* no sistema com base na mudança na coloração do meio de cultivo durante as operações com os efluentes primário (Figuras 17, 18 e 19) e secundário (Figuras 20, 21 e 22).



Figura 17. Coloração do meio de cultivo durante a primeira operação respectivamente após 24 horas (t_1), 120 (t_2) e 168 horas (t_3) de operação.



Figura 18. Coloração do meio de cultivo durante a segunda operação respectivamente após 5 horas (t_1), 53 (t_2) e 125 horas (t_3) de operação.



Figura 19. Coloração do meio de cultivo durante a terceira operação respectivamente após 5 horas (t_1), 53 (t_2) e 125 horas (t_3) de operação.



Figura 20. Coloração do meio de cultivo durante a quarta operação respectivamente após 5 horas (t_1), 77 (t_2) e 173 horas (t_3) de operação.



Figura 21. Coloração do meio de cultivo durante a quinta operação respectivamente após 3,5 (t_1), 99,5 (t_2) e 147,5 horas (t_3) de operação.



Figura 22. Coloração do meio de cultivo durante a sexta operação respectivamente após 3,5 (t_1), 75,5 (t_2) e 123,5 horas (t_3) de operação.

Dentre as operações que utilizaram o efluente primário como meio de cultivo, observou-se a coloração inicial (t_1) mais esverdeada após a mistura

com o inóculo nas OPR 1 e 2, fato possivelmente relacionado à menor concentração de sólidos suspensos nesses efluentes em relação ao utilizado na OPR 3. Já as colorações iniciais observadas nas OPR 4, 5 e 6 foram semelhantes.

Em todos os casos, é nítida a coloração mais intensa de t_1 para t_2 , corroborando com o crescimento da clorofila-*a* apresentada nas Figuras 17-22. Principalmente nas OPR 1 e 2, no momento t_3 a cultura se mostra bastante adensada e foi observada tonalidade mais amarelada durante os dias seguintes. Esse fenômeno foi também apontado por JIANG et al. (2011), e sugerem que o efeito pode ter sido causado pela limitação de nitrogênio, fazendo com que as microalgas utilizem a própria clorofila-*a* como fonte de nitrogênio intracelular.

6.6. Remoção de poluentes

A Tabela 6 apresenta as remoções de nutrientes pelo cultivo de biomassa nos efluentes avaliados.

Tabela 6. Remoção de DQOf, COD, N-NH₄⁺, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ e PS durante o cultivo de biomassa de microalgas nos efluentes avaliados.

Variáveis	Efluente primário			Efluente secundário		
	OPR 1	OPR 2	OPR 3	OPR 4	OPR 5	OPR 6
[DQOf]i (mg/L)	345,4	342,2	274,6	63,1	48,9	78,0
[DQOf]f (mg/L)	155,8	156,5	190,0	86,0	44,0	39,0
Remoção (%)	54,9	54,3	30,8	-36,3	10,1	50,0
[COD]i (mg/L)	236,6	125,8	170,0	28,1	18,1	14,4
[COD]f (mg/L)	60,4	59,6	66,4	49,2	26,7	14,6
Remoção (%)	74,5	52,7	61,0	-75,1	-48,1	-1,6
[N-NH ₄ ⁺]i (mg/L)	22,8	23,1	3,7	62,5	16,9	13,5
[N-NH ₄ ⁺]f (mg/L)	0,0	0,0	0,0	8,8	0,0	0,0
Remoção (%)	100,0	100,0	100,0	86,0	100,0	100,0
[N-NO ₃ ⁻]i (mg/L)	6,1	2,4	1,2	1,2	0,2	2,1
[N-NO ₃ ⁻]f (mg/L)	2,2	2,6	1,2	0,4	2,3	2,5
Remoção (%)	63,9	-8,3	0,0	66,7	-1050,0	-19,0
[N-NO ₂ ⁻]i (mg/L)	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
[N-NO ₂ ⁻]f (mg/L)	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Remoção (%)	100,0	95,7	100,0	-92,3	100,0	50,0
[PS]i (mg/L)	6,0	1,6	5,5	0,7	0,6	0,3
[PS]f (mg/L)	0,3	0,0	3,7	0,0	0,0	0,0
Remoção (%)	94,7	100,0	33,1	100,0	100,0	100,0

[...]i: concentração inicial da variável (no efluente bruto); [...]f: concentração final da variável (após o cultivo).

No efluente primário, a maior concentração de nutrientes prontamente assimiláveis por microrganismos resultou em uma maior produção de biomassa e na consequente maior eficiência de tratamento em relação ao efluente secundário. Tendo como objetivos atender aos requerimentos de descarte dos efluentes e a produção energética de microalgas, verificou-se o maior potencial do sistema aplicado a nível secundário de tratamento – ou seja, com a utilização de efluente primário – fato também constatado por TAM & WONG (1989), que avaliaram o cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* e *Scenedesmus* sp. em efluentes domésticos tratados a nível primário e secundário. Além de apresentar condições nutricionais limitantes ao crescimento de microrganismos, a menor aplicabilidade do efluente secundário nesse estudo se justifica ainda pelo fato de este já se enquadrar nos requerimentos de descarte da CONAMA 430/2011 em relação à variável N-NH₄⁺ em 2 das 3 operações realizadas, o que não justificaria, à princípio, o tratamento biológico desse efluente.

A eficiência de remoção de nutrientes será discutida a seguir juntamente com a análise dos perfis de cada variável monitorada durante cada operação.

6.6.1. Matéria orgânica

Nas Figuras 23 e 24 são apresentados os respectivos dados de DQO total e DQO filtrada ao longo do monitoramento.

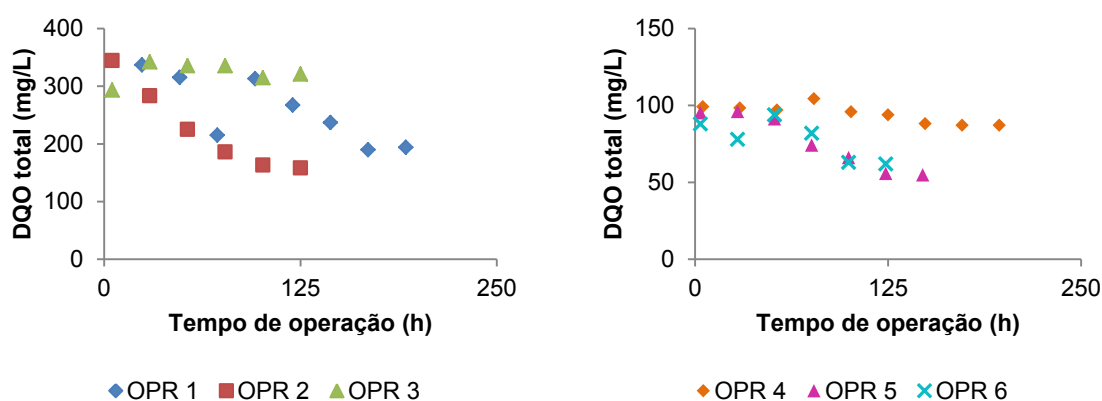


Figura 23. Valores de DQO total registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

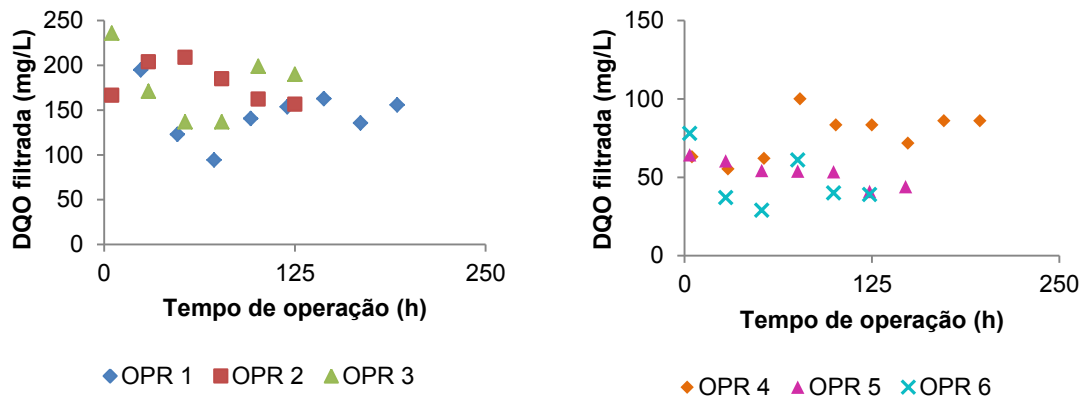


Figura 24. Valores de DQO filtrada registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Em geral, ao contrário do observado por ARBIB et al. (2013) e CHO et al. (2011), as concentrações de DQO durante as operações não acompanharam os seus respectivos perfis de SSV e de clorofila-*a*. Com exceção do verificado na OPR 3 e 4, houve redução da DQO total e filtrada acompanhada de aumento de biomassa no sistema. Comportamento semelhante foi reportado por ZHU et al. (2013) para todas as diluições de um efluente de suinocultura avaliadas no cultivo de *Chlorella zofingiensis* em um FBR coluna de bolhas, submetido à iluminação artificial por período integral ($230 \pm 20 \mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$) e agitação contínua por ar comprimido suplementado com 5-6% de CO_2 . Em relação à concentração inicial existente nos efluentes do presente estudo, as remoções de DQO total foram de: 43,9% (OPR 1), 54,5% (OPR 2), 8,5 % (OPR 3), 12,4 % (OPR 4), 44,8 % (OPR 5) e 29,5 % (OPR 6). ZHU et al. (2013), contudo, verificaram remoções superiores: 74.29%, 78.18%, 79.84%, 76.46%, 65.81% e 67.25% nas diluições contendo, respectivamente, concentrações iniciais de 3500, 2500, 1900, 1300, 800 e 400 mg DQO total/L.

Por outro lado, tendo em vista o tratamento do efluente como objetivo concomitante à produção e o aproveitamento da biomassa, as eficiências de remoção de DQO filtrada resultaram na concentração final de 39 (OPR 6) à 156,5 mg/L (OPR 2). Uma vez que representa a matéria orgânica dissolvida no meio de cultivo, o consumo heterotrófico de bactérias, fungos e microalgas pode ter contribuído para tal remoção. Considerando a separação da biomassa

para posterior aproveitamento, essa variável diz respeito à matéria orgânica contida no efluente a ser despejado nos corpos d'água.

Esperava-se uma remoção de DQO filtrada menor no efluente secundário devido à maior recalcitrância da matéria orgânica. No entanto, houve remoção de 50% (OPR 6) – semelhante ao efluente primário (OPR 1 e 2) – remoção de 10% (OPR 5) e incremento de 36,3% (OPR 4) de DQO filtrada. Isso é reflexo da ampla variação da composição dos efluentes. O incremento de DQO filtrada pode estar relacionado, dentre outros, à liberação de compostos orgânicos pelas microalgas.

A Figura 25 apresenta a concentração de COD durante os cultivos nos efluentes primário e secundário avaliados.

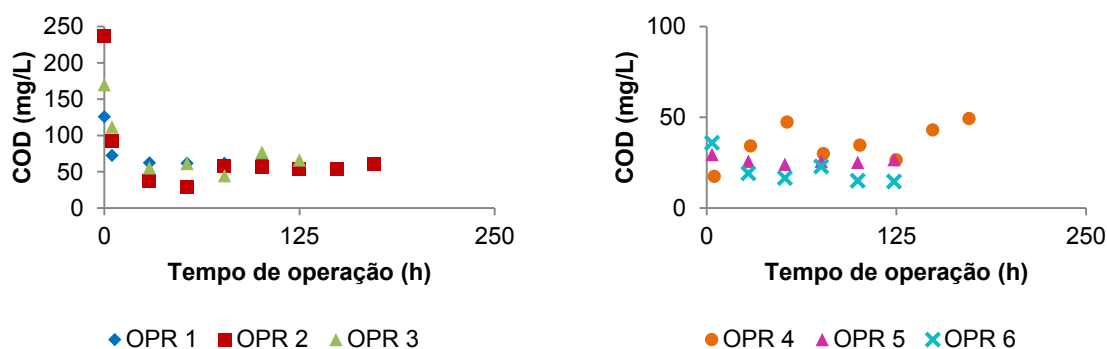


Figura 25. Valores de COD registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Durante todas as operações, houve remoção de carbono total dissolvido (CT): 70,3% (OPR 1), 40,0% (OPR 2), 44,2% (OPR 3), 29,8% (OPR 4), 3,5% (OPR 5) e 2,3% (OPR 6). O comportamento do COD, contudo, foi distinto entre os efluentes. Enquanto se observou a remoção rápida de COD logo no início do cultivo em efluente primário, houve incremento de COD durante o cultivo em efluente secundário. Tal comportamento pode estar relacionado à recalcitrância da matéria orgânica existente no efluente secundário somado à liberação de compostos orgânicos pelas microalgas, fato indesejável do ponto de vista ambiental.

6.6.2. Nitrogênio e fósforo

A Figura 26 apresenta a concentração de $N-NH_4^+$ registrada durante os cultivos nos efluentes primário e secundário.

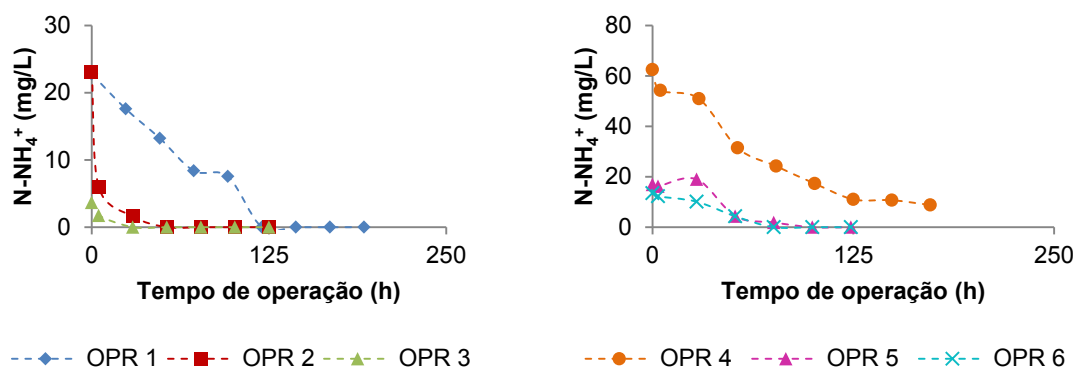


Figura 26. Concentração de $N-NH_4^+$ registrada durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

A satisfatória remoção de $N-NH_4^+$ observada em todas as operações foi maior que as obtidas por WANG et al. (2010) através do cultivo de *Chlorella* sp. em efluente municipal bruto (82,4%), primário (74,7%) e concentrado após centrifugação (78,3%). O tempo necessário para a remoção máxima de $N-NH_4^+$ foi similar apenas entre as OPR 2 e 3 (50 horas) e OPR 5 e 6 (75,5 horas). WANG et al. (2012) verificaram a máxima remoção de $N-NH_4^+$ em até três dias de cultivo para todos os efluentes avaliados. Como também reportado por RUIZ-MARTINEZ et al. (2012), o controle do pH permitiu supor que grande parte da remoção de $N-NH_4^+$ é devido à sua assimilação pela biomassa, já que valores que favoreceriam a volatilização não foram atingidos.

KUMAR et al. (2010) avaliaram o efeito da concentração inicial de $N-NH_4^+$ na eficiência de remoção deste componente e na produtividade de *Chlorella vulgaris* em efluente de suinocultura previamente autoclavado. Dentre as concentrações iniciais avaliadas pelos autores (10, 20, 30, 40, 50 e 60 mg $N-NH_4^+$ /L), o tratamento com 20 mg $N-NH_4^+$ /L promoveu a maior taxa de crescimento específico (0,577/d), observada após 4 dias de cultivo, resultando na maior remoção de $N-NH_4^+$ (61,8%). No presente estudo, verificou-se que as maiores concentrações de biomassa – 940 (OPR 1) e 1.160 mg SSV/L (OPR 2) – foram promovidas pelo cultivo em efluente primário de concentração inicial de 22,8 (OPR 1) e 23,1 mg $N-NH_4^+$ /L (OPR 2), respectivamente após 4 e 7 dias de operação, resultando na completa remoção de $N-NH_4^+$.

A Figura 27 apresenta a concentração de $N-NO_3^-$ registrada durante os cultivos nos efluentes primário e secundário.

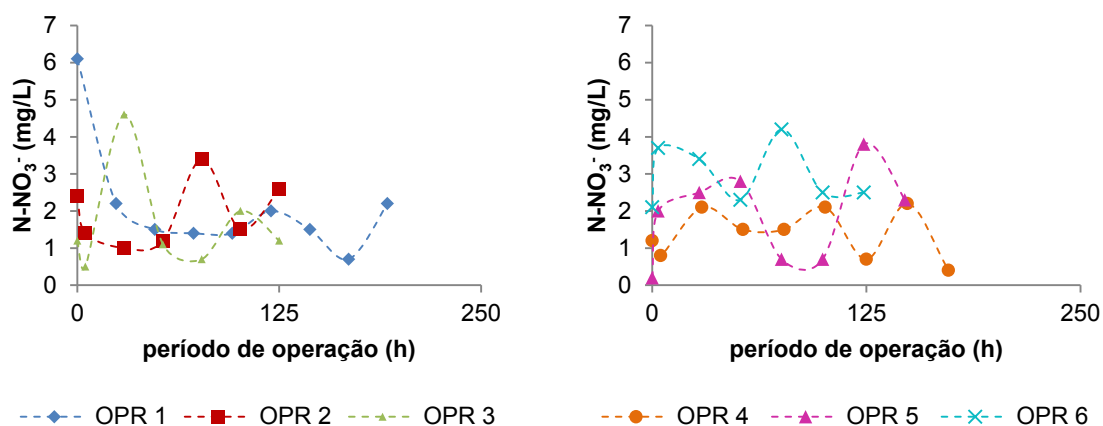


Figura 27. Concentração de N-NO_3^- registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Os efluentes primário e secundário apresentaram reduzida concentração inicial de N-NO_3^- , variando de 0,2 (OPR 5) à 6,1 (OPR 1) mg/L. Entre os efluentes, não se observou comportamentos distintos de N-NO_3^- e as maiores remoções foram verificadas nas OPR 1 (63,9%) e OPR 4 (66,7%).

De acordo com PITTMAN et al. (2011), em condições adequadas, microalgas como *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. promovem elevada ou até mesmo a completa remoção de N-NO_3^- em efluentes secundários. Todavia, no presente estudo, observou-se que o cultivo de biomassa em efluentes não resultou, necessariamente, na remoção deste componente. Após atingir a completa remoção de N-NH_4^+ , esperava-se que o N-NO_3^- fosse a forma de nitrogênio preferencialmente consumida. Houve, contudo, grande variação da concentração de N-NO_3^- durante todas as operações, ocorrendo até mesmo incrementos deste componente no efluente final (OPR 2, 5 e 6). A permanência de N-NO_3^- no meio de cultivo pode estar associada à ausência de outro nutriente, como o fósforo, o que pode limitar o crescimento da biomassa e, portanto, a assimilação deste nutriente.

Devido à grande variedade de microrganismos existentes em ambos os efluentes, as remoções de N-NO_3^- observadas em alguns momentos podem estar associadas ao processo de assimilação pela biomassa. Mesmo o nitrato sendo reportado como uma fonte de nutriente de menor preferência em alguns casos, resultados como os de SÁNCHEZ VILLASCLARAS et al. (1996) evidenciaram o aumento da taxa de crescimento de *Chlorella pyrenoidosa* e

Scenedesmus obliquus pelo suplemento de KNO_3 . Avaliando o cultivo de consórcio de algas mixotróficas em efluente municipal primário previamente esterilizado e filtrado, MAHAPATRA et al. (2014) atribuiu o aumento da concentração de nitrato (de $1,07 \pm 0,15$ para $1,54 \pm 0,28$ mg/L) à nitrificação, processo de duas etapas realizado por bactérias nitrificantes – organismos autotróficos muito comuns em sistemas de cultivo mixotróficos (RUIZ-MARTINEZ et al., 2012). Nesse processo, primeiramente é realizada a oxidação de N-NH_4^+ à N-NO_2^- por bactérias oxidantes de amônia e, depois, o N-NO_2^- é transformado em N-NO_3^- por bactérias oxidantes de nitrito.

A Figura 28 apresenta a concentração de N-NO_2^- registrada durante os cultivos nos efluentes primário e secundário.

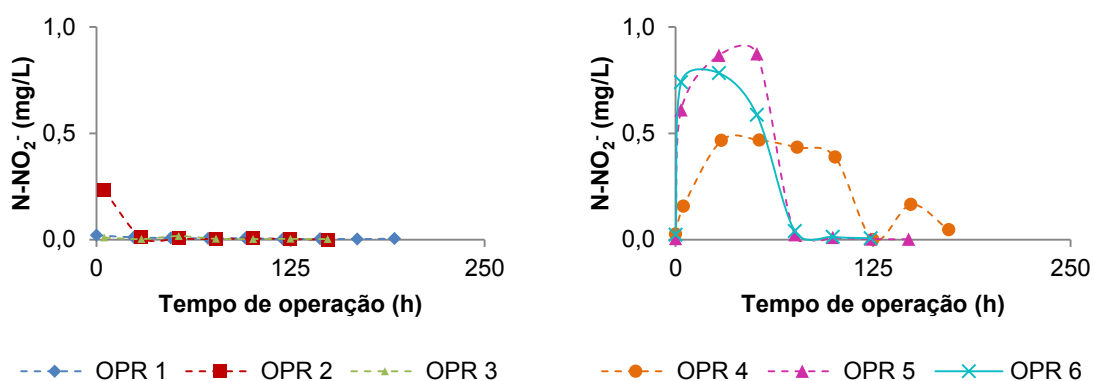


Figura 28. Concentração de N-NO_2^- registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Enquanto no efluente primário praticamente não se identificou a presença de N-NO_2^- , a reduzida concentração de N-NO_2^- existente no efluente secundário foi completamente removida nas primeiras 75 horas (OPR 5 e 6) e nas primeiras 120 horas (OPR 4). Dentre outros fatores, a remoção de N-NO_2^- registrada durante o cultivo em efluente secundário está possivelmente associada à ocorrência de nitrificação, já que a presença de bactérias oxidantes de N-NH_4^+ e N-NO_2^- é frequente em sistemas de lodos ativados. O processo de nitrificação pode estar associado tanto ao incremento de nitrito quanto à sua redução no meio de cultivo. No presente estudo, a nitrificação se torna evidente no cultivo em efluente secundário quando se avalia o comportamento das formas de nitrogênio simultaneamente. Particularmente, durante as primeiras horas das OPR 5 e 6, ocorreu a simultânea remoção de

N-NH₄⁺ e incremento de N-NO₂⁻. Em seguida, houve remoção de N-NO₂⁻ e incremento de N-NO₃⁻. A ligeira remoção de N-NO₂⁻ (de 0,32 ± 0,05 para 0,21 ± 0,05 mg/L) verificada por MAHAPATRA et al. (2014) através do cultivo de microalgas em meio mixotrófico foi atribuída à assimilação e à nitrificação.

A Figura 29 apresenta as concentrações de PS durante os cultivos nos efluentes primário e secundário avaliados.

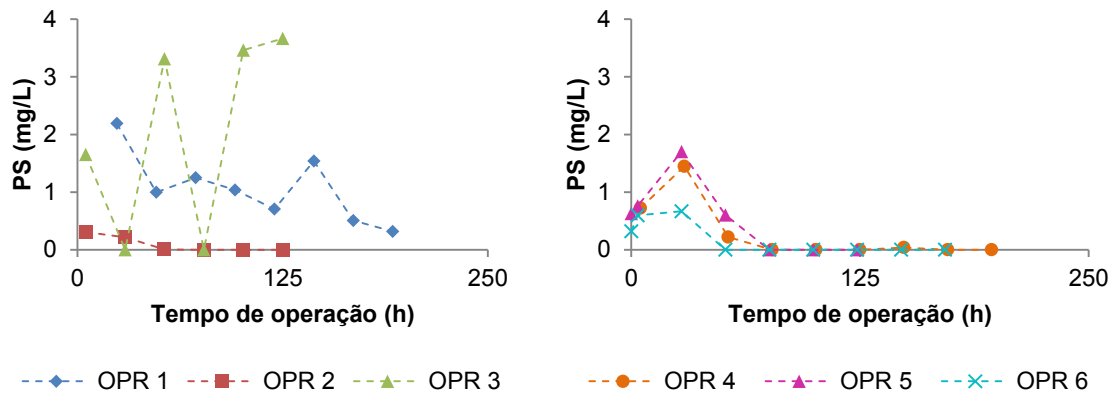


Figura 29. Concentração de PS registrados durante os cultivos nos efluentes primário e secundário (lado esquerdo e direito, respectivamente).

Diferente do efluente primário, o comportamento do efluente secundário em relação à remoção de PS foi semelhante entre as OPR 4, 5 e 6, incorrendo em remoções plenas em até 75 horas. Tanto no efluente primário (com exceção da OPR 3) quanto no secundário, as remoções de PS foram atribuídas principalmente à assimilação pela biomassa, já que houve controle do pH entre 6 e 8.

Com exceção da OPR 3, que apresentou grande variação da concentração de PS no meio, alternando entre incrementos e remoções plenas desse nutriente, todas as demais operações do efluente primário apresentaram elevadas remoções de PS, de 95% (OPR 1, após 192 horas) e 100% (OPR 2, após 53 horas), superiores à reportada por WANG et al. (2010) no cultivo de *Chlorella* sp. em efluente primário (91%, em termos de P-PO₄). A elevada remoção de nutrientes foi verificada por LI et al. (2010) através do cultivo de *Scenedesmus* sp. em meio artificial com N/P variando de 5/1 à 8/1, valores próximos aos registrados no presente estudo na OPR 1 (4,8/1). Semelhante a OPR 3, flutuações de P-PO₄ foram reportadas por KUMAR et al. (2010) em

todas as frequências de alimentação avaliadas para o cultivo de *Chlorella* sp. em efluente de suinocultura. Os autores afirmam que as alterações de P-PO₄ no meio de cultivo podem estar associadas a diversos fatores como à concentração de partículas orgânicas e sedimentos. Em alguns casos, a remoção de P-PO₄ pode ser resultado da adsorção deste pelos sedimentos e partículas orgânicas existentes no meio de cultivo. Quando a saturação dos sedimentos é atingida, o conteúdo de fósforo é liberado, aumentando a sua concentração no meio.

RUIZ-MARTINEZ et al. (2012) identificaram remoções de 97,8% de P-PO₄ através do tratamento de efluente doméstico secundário pelo cultivo de microalgas e cianobactérias. SYDNEY et al. (2011) também apresentaram resultado semelhante com cultivo de espécies selecionadas em efluente secundário, com 100% de remoção de P-PO₄ até o nono dia de operação em condições controladas.

De acordo com WANG et al. (2010), uma limitação que dificulta a difusão de tecnologias de tratamento de efluentes baseadas em algas é o seu longo tempo de detenção hidráulica (TDH) em relação à sistemas de tratamento convencionais como lodos ativados. Todavia, a plena remoção de N-NH₄ e PS nas primeiras 53 horas da OPR 2 permitiu a recuperação de nutrientes e elevada produção de biomassa com amplo leque de aplicação, indicando mais uma vez o potencial de utilização do sistema à nível secundário de tratamento.

6.7. Quantificação do lipídio acumulado e da produtividade lipídica

A Tabela 7 apresenta os resultados de conteúdo lipídico total, produtividade de biomassa total e produtividade lipídica determinados para cada operação.

Tabela 7. Conteúdo lipídico total (% na biomassa seca), produtividade de biomassa total (g/m².d) e produtividade lipídica (g/m².d) para cada efluente avaliado.

	Unidade	Efluente primário			Efluente secundário		
		OPR 1	OPR 2	OPR 3	OPR 4	OPR 5	OPR 6
Lipídio total	%	7,2	7,1	6,8	5,5	6,7	3,2
Produtividade de biomassa	g/m ² .d	32,2	52,5	26,5	12,1	11,4	10,5
Produtividade lipídica	g/m ² .d	2,3	3,7	1,8	0,7	0,8	0,3

A produtividade lipídica depende tanto do conteúdo lipídico quanto da produção de biomassa. Porém, nem sempre a condição ótima para o acúmulo de lipídios resulta em elevada produtividade de biomassa (ASSEMAN, 2013). Dessa forma, de acordo com PRUVOST et al. (2009), maximizar a produtividade lipídica não é tarefa fácil. Como também reportado por ASSEMAN et al. (2014), de maneira geral, percebe-se que dada a pouca variação do conteúdo lipídico, o fator produtividade de biomassa total se mostrou mais relevante na maximização da produtividade lipídica do que o conteúdo de lipídios totais. Assim, como a biomassa cultivada em ambos os efluentes avaliados apresentou baixo conteúdo lipídico (< 10%), a maior produtividade lipídica verificada no efluente primário – de 1,8 (OPR 3) a 3,7 g/m².d (OPR 2) – foi atribuída à sua maior produtividade de biomassa em relação ao efluente secundário. Tal fato pode estar relacionado a diversos fatores, dentre os quais se destacam as características do efluente primário (como disponibilidade de PS, relação N/P e a elevada concentração de compostos orgânicos) e a composição da biomassa.

O conteúdo lipídico da biomassa produzida em ambos os efluentes – entre 3,2% (OPR 6) e 7,2% (OPR 1) – foi inferior ao reportado FENG et al. (2011) (20-42%) pelo cultivo de *Chlorella vulgaris* em FBR coluna de bolhas utilizando efluente artificial como meio de cultivo; CHINNASAMY et al. (2010) (12-80%) através da produção de uma cultura mista de algas em um reator de escala laboratorial utilizando efluente da indústria de tapete como meio de cultivo; MAHAPATRA et al. (2014) (18-28,5%) através da produção mixotrófica de consórcio de microalgas em FBR *outdoor*, utilizando efluente municipal como meio de cultivo, entre outros estudos. Tal fato limitou a produtividade lipídica à no máximo 15,6 mg/L.d (ou 3,7 mg/m².d), valor próximo a 24 mg/L.d verificado através da produção de consórcio de algas verdes e diatomáceas realizado em reator de escala laboratorial, utilizando uma mistura de efluente de laticínio e municipal como meio de cultivo (WOERTZ et al., 2009) e 23 mg/L.d através do cultivo de *Chlorella* sp. 227 em reator de escala laboratorial, utilizando efluente municipal como meio de cultivo (CHO et al., 2011).

O conteúdo lipídico está associado a diversos fatores como a espécie cultivada, o meio de cultivo, condições operacionais, tipo de FBR, entre outros. A submissão da cultura à limitação de nutrientes é um artifício frequentemente aplicado para aumentar o acúmulo de lipídio em microalgas (XIN et al., 2010a). Avaliando o cultivo de *Nannochloropsis* em FBR de painéis, RODOLFI et al. (2009) verificaram que a produção de lipídios aumentou de 32% para 60% quando a condição de cultivo foi alterada de “suficiente em nitrogênio” para “deficiente em nitrogênio”. Apesar de, em geral, *Scenedesmus* não se caracterizar como um gênero com grande capacidade de acumular lipídios, em concentrações reduzidas de nitrogênio e fósforo, XIN et al. (2010a) verificaram o aumento do conteúdo lipídico de *Scenedesmus* sp. LX1 de 20-25% para 30% e 53%, respectivamente. No entanto, no presente estudo, as condições de limitada concentração de nutrientes, como a limitação de nitrogênio na OPR 3 e a limitação de fósforo nas OPR 4, 5 e 6, não resultaram no maior conteúdo lipídico da biomassa em relação às demais operações. Por outro lado, a maior disponibilidade de PS e a relação N/P características do efluente primário durante a OPR 1 e 2 favoreceram a produção de biomassa e, conseqüentemente, a produtividade lipídica, mesmo com reduzido conteúdo lipídico acumulado pela biomassa.

Analisando apenas os dados de produtividade lipídica, pode-se inferir que os efluentes avaliados como meio de cultivo de biomassa em FBR coluna de bolhas possuem potencial quanto ao aproveitamento da biomassa na produção de biocombustíveis. Todavia, é necessária a análise do desempenho energético do processo, contabilizando o consumo de energia e o retorno energético da biomassa produzida.

6.8. Análise energética

A Tabela 8 apresenta os resultados da análise energética da produção de microalgas em FBR coluna de bolhas utilizando os efluentes avaliados como meios de cultivo.

Tabela 8. Análise comparativa da produção de biomassa e de lipídios utilizando os efluentes primário e secundário avaliados como meios de cultivo em FBR coluna de bolhas.

		Efluente primário			Efluente secundário		
		OPR 1	OPR 2	OPR 3	OPR 4	OPR 5	OPR 6
input energético	Potência compressor (kW)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	Duração da batelada (dias)	7,0	5,2	5,2	7,2	7,2	5,1
	Consumo energético (kWh/dia)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
	Consumo energético (kWh/ano)	1,5E+03	1,1E+03	1,1E+03	1,6E+03	1,6E+03	1,1E+03
	Consumo anual (kJ/ano)	5,4E+06	4,1E+06	4,1E+06	5,6E+06	5,6E+06	4,0E+06
Energia da biomassa total	Concentração de biomassa (mg/L)	940,0	1140,0	575,0	363,0	341,0	225,0
	Produção de biomassa (g/operação)	45,1	54,7	27,6	17,4	16,4	10,8
	Produção anual de biomassa total (kg/ano)	1,6	2,0	1,0	0,6	0,6	0,4
	Produção energética total anual (kJ/ano)	5,1E+04	6,2E+04	3,1E+04	2,0E+04	1,9E+04	1,2E+04
Energia dos lipídios	Lipídio Total (%)	7,2	7,1	6,8	5,5	6,7	3,2
	Produção anual de lipídios totais (kg/ano)	1,2E-01	1,4E-01	6,8E-02	3,5E-02	3,9E-02	1,2E-02
	Produção volumétrica de lipídios por ano (m ³ /ano)	1,3E-04	1,6E-04	7,5E-05	3,9E-05	4,4E-05	1,4E-05
	Produção energética a partir do óleo (kJ/ano)	4,5E+03	5,5E+03	2,6E+03	1,4E+03	1,5E+03	4,8E+02
NER biomassa		9,4E-03	1,5E-02	7,7E-03	3,5E-03	3,3E-03	3,1E-03
NER lipídios		8,3E-04	1,4E-03	6,5E-04	2,4E-04	2,7E-04	1,2E-04
P_B/E_C (mg/kJ)		3,0E-01	4,9E-01	2,5E-01	1,1E-01	1,1E-01	9,7E-02

De acordo com PEGALLAPATI et al. (2014), em geral, FBRs têm sido avaliados apenas em termos de produtividade volumétrica de biomassa (P_B , mg/L.d). O *input* energético para o cultivo (E_C , kJ/L.d), contudo, tem sido negligenciado. Para a produção de biodiesel de microalgas em larga escala, o consumo energético do cultivo deve ser minimizado para maximizar a produção líquida de energia. De acordo com ZHU et al. (2014b), para sustentar a produção de energia em um sistema, a NER deve ser > 1 , e a mais elevada possível. Grande parte dos estudos avalia comparativamente o desempenho energético de diferentes sistemas de cultivo (LATs, FBR em painéis, FBR tubular, entre outros) (JORQUERA et al., 2010) ou de diferentes espécies de microalgas (PEGALLAPATI et al., 2014). Todavia, não foram identificados na literatura estudos que avaliassem o desempenho energético da produção de microalgas (em termos de NER e P_B/E_C) em diferentes meios de cultivo.

No presente estudo, ambos os efluentes avaliados resultaram em valores de NER (biomassa e lipídios) reduzidos, indicando o baixo desempenho energético do sistema. Mesmo o maior valor de NER (biomassa) verificado no presente estudo durante a OPR 2 (0,015) foi 13 vezes inferior ao menor valor registrado por JORQUERA et al. (2010) em FBR tubular (0,20). Quando se contabiliza o retorno energético apenas dos lipídios, a situação foi ainda mais limitante. Nesse caso, o maior valor de NER (lipídios) verificado na OPR 2 (0,0014) foi 50 vezes inferior ao menor valor registrado por JORQUERA et al. (2010) em FBR tubular (0,07). Tais valores podem ainda ser menores se considerarmos a energia necessária aos processos subsequentes de produção de biodiesel (separação da biomassa, extração de óleo, entre outros). OZKAN et al. (2012) verificaram que o NER da biomassa em FBR tubular reportado por JORQUERA et al. (2010) (de 0,2) foi reduzido a 0,08 quando se considerou o consumo energético no processo de separação da biomassa.

Semelhante ao observado por JORQUERA et al. (2010) em FRB tubular, percebeu-se que uma das maiores limitações do desempenho energético do cultivo de microalgas foi o elevado consumo energético advindo da agitação do meio pelo compressor de ar utilizado. De acordo com tais autores, se a demanda energética de agitação dos FBRs tubulares reduzirem de 2500 W/m³ para 180 W/m³, o valor de NER (lipídios) poderia aumentar de 0,07 a 1.

Apesar da elevada produtividade de biomassa, devido ao elevado consumo energético do sistema e do baixo conteúdo lipídico acumulado na biomassa, valores de NER superiores aos reportados no presente estudo foram verificados em LATs (NER biomassa de 8,34 e NER lipídio de 3,05) e em FBR de painéis (NER biomassa de 4,51 e NER lipídio de 1,65) (JORQUERA et al., 2012). Tal constatação é importante, pois grande parte do consumo energético e do custo das etapas subsequentes de processamento de lipídios depende da densidade celular e do conteúdo lipídico (LI et al., 2008). Assim como a elevada densidade celular reduz os custos associados à separação da biomassa, o elevado conteúdo lipídico reduz os custos associados à sua extração (FENG et al., 2011).

O desempenho do sistema com a utilização dos efluentes primário e secundário foi avaliado ainda em termos de produção de biomassa por *input* energético (P_B/E_C). Os resultados obtidos para ambos os efluentes – de 0,1 à 0,5 mg/kJ – foram inferiores a diversos estudos (PEGALLAPATI et al., 2014). A partir de dados compilados da literatura, PEGALLAPATI et al. (2014) reavaliaram o cultivo de algas em termos de P_B/E_C . Tais autores identificaram, por exemplo, que o cultivo do dinoflagelado *Alexandrium minutum* em FBR coluna de bolhas *outdoor* resultou na produção de 123,9 mg/kJ (dados extraídos de FUENTES-GRÜNEWALD et al., 2013), superior ao verificado no presente estudo. Contudo, a partir do mesmo estudo, PEGALLAPATI et al. (2014) verificaram um desempenho inferior quando foram cultivadas as espécies *Heterosigma akashivo* (11,94 mg/kJ) e *Karlodinium veneficum* (8,95 mg/kJ). Como o *design* e operação do sistema devem ser adaptados em função das necessidades da biomassa produzida (PEGALLAPATI et al., 2014), o cultivo *outdoor* de espécies de algas com menores requerimentos energéticos (agitação), como algumas espécies de algas bentônicas em sistemas de cultivo aderido, pode melhorar o balanço energético, a produção de biomassa total e de lipídios (OZKAN et al., 2012).

A utilização de equipamentos adequados e de menor consumo energético; artifícios como a inclinação do FBR para a melhor utilização da energia solar ou a utilização de um processo de estágios múltiplos podem otimizar o desempenho energético do sistema. Outra opção é a realização à produção de

microalgas em estágio múltiplos, como primeiramente avaliado por RODOLFI et al. (2009). Nesse sistema em múltiplos estágios, a produção de biomassa ocorreria primeiramente sob condições ótimas de cultivo (nutrientes, pH, temperatura, CO₂, agitação e iluminação) em FBR *indoor* ou *outdoor* de escala menor. Posteriormente, a biomassa seria alocada a uma unidade *outdoor* maior como uma LAT e submetida à limitação de nitrogênio para estimular o acúmulo de lipídios. Enquanto o FBR forneceria condições ótimas de cultivo em períodos reduzidos, a LAT promoveria o acúmulo de lipídios a custos reduzidos (PEGALLAPATI et al., 2014). Outra alternativa é o cultivo heterotrófico de biomassa nos efluentes avaliados, já que estes possuem elevada concentração de matéria orgânica. Tal abordagem pode ser vantajosa em termos de acúmulo de lipídios (BHATNAGAR et al., 2010) e redução dos custos de produção (MAHAPATRA et al., 2014).

Os resultados de NER biomassa, NER lipídios e P_B/E_C indicam que o cultivo de biomassa nestes efluentes direcionou o metabolismo da biomassa para a maior produção de outras substâncias em relação aos lipídios totais. Ao menos que sejam exploradas as diversas possibilidades de redução do consumo energético e aumento do conteúdo lipídico, a utilização da biomassa produzida nos efluentes avaliados deve ser direcionada a outro aproveitamento. Dependendo da composição da biomassa, a produção de bioetanol ou biogás são possibilidades amplamente avaliadas.

Além disso, a abordagem da biorrefinaria pode maximizar o desempenho energético pelo aproveitamento pleno da biomassa. Por exemplo, os resíduos advindos do processamento de biocombustíveis, como a extração lipídica, são geralmente ricos em substâncias que podem ainda ser convertidas em uma variedade de biocombustíveis como o biometano, bioetanol, biohidrogênio, biobutanol, dentre outros (PRAGYA et al., 2013).

7. CONCLUSÕES

Apesar da variabilidade física e química, de forma geral, a composição distinta dos efluentes avaliados, principalmente em termos de disponibilidade de nutrientes (C, N e P), relação N/P e concentração de SSV, foi um dos fatores que influenciaram a remoção de nutrientes, a produtividade de biomassa e a produtividade lipídica do sistema. O cultivo em efluente primário resultou em uma maior produção de biomassa e na conseqüente maior eficiência de tratamento em relação ao efluente secundário. Tendo como objetivos atender aos requerimentos de descarte dos efluentes e a produção energética de microalgas, verificou-se o maior potencial do sistema aplicado a nível secundário de tratamento.

Em relação à remoção de matéria orgânica, observou-se a maior remoção de DQO filtrada e COD no efluente primário em relação ao secundário. Houve incremento de COD no efluente secundário, fato indesejável do ponto de vista ambiental. O nitrogênio amoniacal foi plenamente removido em até 50 horas nas OPR 2 e 3 (efluente primário) e em até 75,5 horas nas OPR 5 e 6 (efluente secundário). A plena remoção de PS foi observada em todas as operações do efluente secundário e variou entre as operações do efluente primário. Tanto a remoção de N-NH_4^+ quanto a remoção de PS foram atribuídas à assimilação pela biomassa, já que o pH foi controlado entre 6 e 8.

Como a biomassa cultivada em ambos os efluentes avaliados apresentou baixo conteúdo lipídico, a maior produtividade lipídica verificada no efluente primário foi atribuída à sua maior produtividade de biomassa em relação ao efluente secundário. Mesmo assim, ambos os efluentes avaliados resultaram em valores de NER (biomassa e lipídios) reduzidos, indicando o baixo desempenho energético do sistema. Uma das maiores limitações verificadas foi o elevado consumo energético advindo da agitação do meio pelo compressor de ar utilizado. Ao menos que sejam exploradas as diversas possibilidades de redução do consumo energético e aumento do conteúdo lipídico, a utilização da biomassa produzida pelo cultivo nos efluentes avaliados deve ser direcionada a outro aproveitamento que não a produção de biodiesel.

8. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Ainda há muito a ser explorado no universo que compreende as microalgas, tanto no que tange ao tratamento de efluentes quanto à produção de biocombustíveis. As pesquisas destinadas a aplicação de efluentes do processamento de carne como meio de cultivo de microalgas se concentram apenas na etapa de abate. Não foram identificados estudos que avaliassem a aplicação de efluentes das demais etapas da cadeia produtiva de carnes - como os advindos da etapa de beneficiamento - ao cultivo de microalgas. Grande parte dos estudos sobre o simultâneo tratamento de efluentes e produção de biomassa em FBR utilizam sistemas de produção em escala laboratorial, meios de cultivo sintéticos ou diluídos e se restringem à avaliação apenas da eficiência do tratamento. Há poucas pesquisas sobre a produção energética de microalgas como um todo, que contemplem desde o cultivo em efluentes (particularmente, em FBRs de escala piloto) à produção de biocombustíveis.

No presente estudo, verificou-se que uma das maiores limitações do desempenho energético do cultivo de microalgas foi o elevado consumo energético advindo da agitação do meio pelo compressor de ar utilizado. Como o *design* e a operação do sistema devem ser adaptados em função das necessidades da biomassa produzida (PEGALLAPATI et al., 2014), o cultivo *outdoor* de espécies de algas com menores requerimentos energéticos (agitação), como algumas espécies de algas bentônicas em sistemas de cultivo aderido, pode melhorar o balanço energético, a produção de biomassa total e de lipídios. Outra limitação registrada foi o reduzido conteúdo lipídico acumulado pela biomassa cultivada em ambos os efluentes. Como *Scenedesmus* não se caracteriza como um gênero com grande capacidade de acumular lipídios, seu cultivo nas condições avaliadas deve se direcionar a outro aproveitamento, que não a produção de biodiesel. O cultivo heterotrófico de biomassa pode ser uma abordagem vantajosa em termos de acúmulo de lipídios e redução dos custos de produção.

A avaliação da viabilidade e sustentabilidade da produção de biocombustíveis de microalgas em efluentes é necessária e pode ser realizada através de análises de ciclo de vida, o qual permite quantificar os potenciais retornos

energéticos, a pegada de carbono e identificar os principais limitantes da cadeia produtiva. Apesar do elevado potencial de aplicação das microalgas no contexto da biorrefinaria (devido à sua ampla variedade de composição da sua biomassa), a cogeração de múltiplos produtos é ainda um desafio. Além dos lipídios, o aproveitamento de outros componentes celulares como a proteína (para a alimentação animal) é considerado uma via pouco explorada e promissora, que agrega valor e se adequa perfeitamente ao conceito de biorrefinaria. Ademais, estudos sobre a utilização dos resíduos gerados após a extração lipídica, apesar de incipientes, demonstram grande potencial para manter ambos os aspectos energéticos e econômicos em equilíbrio.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-SHANAB, R. A. I.; JI, M.K, KIM, H. C.; PAENG, K.J.; JEON, B.H. Microalgal species growing on piggery wastewater as a valuable candidate for nutrient removal and biodiesel production. **Journal of Environment Management**, 115, p. 257-264. 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. Superintendência de Refino, Processamento de Gás Natural e Produção de Biocombustíveis. Boletim mensal do biodiesel. **Boletim**. p. 1-13 Abril, 2014.
- AJAYAN, K. V.; SELVARAJU, M.; UNNIKANNAN, P.; SRUTHI, P. Phytoremediation of tannery waste water using microalgae *Scenedesmus* species. **International Journal of Phytoremediation**. In Press. 2015.
- ALONSO, D. L.; BELARBI, E. H.; FERNADEZ-SEVILLA, J. M.; RODRIGUEZ-RUIZ, J.; GRIMA, E. M. Acyl lipid composition variation related to culture age and nitrogen concentration in continuous culture of the microalga *Phaeodactylum tricorutum*. **Photochemistry**, 54, p. 461-471. 2000.
- ANJOS, M.; FERNANDES, B. D.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; DRAGONE, G. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, 139, p.149–154, 2013.
- APHA. Standard Methods for examination of water and wastewater. Wasington: American Water Work Association, Water Environmental Federation. 2005.
- ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAS, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. **Ecological Engineering**, 52, p. 143-153. 2013.
- ASSEMANY, P. P. Efeito da radiação solar e pré-desinfecção na caracterização lipídica de biomassa cultivada em lagoas de alta taxa

utilizando esgoto doméstico. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Universidade Federal de Viçosa. 102 p. 2013.

- ASSEMANY, P. P.; CALIJURI, M. L.; SANTIAGO, A. F.; COUTO, E. A.; LEITE, M. O.; SIERRA, J. J. Effect of solar radiation on the lipid characterization of biomass cultivated in high-rate algal ponds using domestic sewage. **Environmental Technology**, 35 (17-20), p. 2296-305, 2014.
- ATABANI, A. E.; SILITONGA, A. S.; BADRUDDIN, I. A.; MAHLIA, T. M. I.; MASJUKI, H. H.; MEKHILEF, S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 16(4), p. 2070–2093. 2012. doi:10.1016/j.rser.2012.01.003.
- BABU, M. A.; VAN DER STEEN, N. P.; HOOIJMANS, C. M.; GIJZEN, H.J. Nitrogen mass balances for pilot-scale biofilm stabilization ponds under tropical conditions. **Bioresource Technology**, v.102, p. 3754–3760, 2011.
- BAHADAR, A.; KHAN, M. B. Progress in energy from microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**: 27: 128–148, 2013.
- BARROCAL, V. M.; GARCÍA-CUBERO, T.; GONZÁLEZ-BENITO, G.; COCA, M. Production of biomass by *Spirulina máxima* using sugar beet vinasse in growth media. *New Biotechnology*, 27 (6), p. 851-856, 2010.
- BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. 1 ed Cambridge: Cambridge University Press, 1994, 293 p. ISBN 978-0-512-35020-4.
- BHATNAGAR, A.; CHINNASAMY, S.; SINGH, M.; DAS, K. C. Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. **Applied Energy**, 88(10), p. 3425-3431. 2011. doi:10.1016/j.apenergy.2010.12.064.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430, 13 de Maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA.
- CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 19, 360-369, 2013.
- CARAWAN, R. E.; CHAMBERS, A. V.; ZALL, R. R. WILKOWSKE, R. H. Meat processing: water and wastewater management. Water and wastewater management in food processing. **Extension Special Report Nol AM18c**. North Carolina State University. 1979.
- CHEIRSILP, B.; SUWANNARAT, W.; NIYOMDECHA, R. Mixed culture of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for lipid production from industrial wastes and its use as biodiesel feedstock. **New Biotechnology**, 28(4), p. 362–8. 2011. doi:10.1016/j.nbt.2011.01.004.
- CHEN, C.-Y.; YEH, K.-L.; AISYAH, R.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel

- production: A critical review. **Bioresource Technology**, 102, p. 71-81, 2011.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, 25, p. 294–306, 2007.
- CHO, S.; LUONG, T. T.; LEE, D.; OH, Y.-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from a municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**, 102(18), p. 8639–45. 2011. doi:10.1016/j.biortech.2011.03.037.
- CRAGGS, R. J.; DAVIES-COLLEY, R. J.; TANNER, C. C.; SUKIAS, J. P. Advanced pond system: performance with high rate ponds of different depths and areas. **Water Science and Technology**, 48(2), 259-267, 2003.
- DA SILVA, L. T.; GOUVEIA, L.; REIS, A. Integrated microbial processes for biofuels and high value-added products: the way to improve the cost effectiveness of biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 98, p. 1043-1053. 2014.
- DARLEY, W. M. Algal biology: A physiological approach. **Basic microbiology**, Oxford: Blackwell, 9, p. 168. 1982.
- DE GODOS, I.; BLANCO, S.; GARCÍA-ENCINA, P. A., BECARES, E., MUÑOZ, R. Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewater at high loading rates. **Bioresource Technology**, 100, p. 4332-4339, 2009.
- DE GODOS, I.; VARGAS, V. A.; BLANCO, S.; GARCÍA GONZÁLEZ, M. C.; GONZÁLEZ, G.; SOTO, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, 101, p. 5150–5158. 2010.
- DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y.; MORENO, M.; LEBSKY, V. K.; BUSTILLOS, J. J. Increased pigment and lipid content, lipid variety, and cell and population size of the microalgae *Chlorella* spp. when co-immobilized in alginate beads with the microalgae-growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. **Canadian Journal of Microbiology**, 48, p. 514-521. 2002.
- DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M. F. Importance of algae as a source of biodiesel. **Energy Conversion and Management**, 52, p. 163-70, 2011.
- EHIMEN, E. A.; CONNAUGHTON, S.; SUN, Z.; CARRINGTON, G. C. Energy recovery from lipid extracted, transesterified and glycerol codigested microalgae biomass. **GCB Bioenergy**, 1(6), p. 371–381. 2009. doi:10.1111/j.1757-707.2009.01029.x.
- FENG, Y.; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**, 102, p. 101-105, 2011.
- FERNÁNDEZ, I.; ACIÉN, F. C.; FERNÁNDEZ, J. M.; GUZMÁN, J. J.; BERENGUEL, M. Dynamic model of microalgal production in tubular photobioreactors. **Bioresource Technology**, 126, p. 172-181. 2012.

- FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). **Amino acid content of foods and biological data on proteins**. Rome, Italy, 1968.
- FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; DA CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; DE ALMEIDA NETO, J. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, 36(3), p. 437–448. 2013.
- FRESEWINKEL, M.; ROSELLO, R.; WILHELM, C.; KRUSE, O.; HANKAMER, B.; POSTEN, C. Integration in microalgal bioprocess development: Design of efficient, sustainable, and economic processes. **Engineering in Life Sciences**, 14, p. 560–573. 2014. doi:10.1002/elsc.201300153.
- FUENTES-GRÜNEWALD, C.; GARCÉS, E.; ALACID, E.; ROSSI, S.; CAMP, J. Biomass and lipid production of dinoflagellates and raphidophytes in indoor and outdoor photobioreactors. **Marine Biotechnology**, 15, p. 37-47, 2013.
- GARCÍA, J.; GREEN, B. F.; LUNDQUIST, T.; MUJERIEGO, R.; HERNANDEZ-MARINÉ, M.; OSWALD, W. J. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. **Bioresource Technology**, 97, p.1709-1715, 2006.
- GROBBELAAR, J. U. Factors governing algal growth in photobioreactors: the “open” versus “closed” debate. **Journal of Applied Phycology**, 21, p. 489-492. 2009.
- GROSSMAN, A. R.; SCHAEFER, M. R.; CHIANG, G. G.; COLLIER, J.L. The responses of cyanobacteria to environmental conditions: light and nutrients, In: D.A. Bryant (Ed.), **The molecular biology of cyanobacteria**, Kluwer Academic Publishers, 21, p. 641–668, 1994.
- GUDIN, C.; CHAUMONT, D. Cell Fragility The Key Problem of Microalgae Mass Production in Closed Photobioreactors. **Bioresource Technology**, 38, p. 145-151, 1991.
- HARRIS, L., TOZZI, S., WILEY, P., YOUNG, C., RICHARDSON, T-M. J., CLARK, K., TRENT, J. D. Potential impact of biofouling on the photobioreactors of the Offshore Membrane Enclosures for Growing Algae (OMEGA) system. **Bioresource Technology**, 144, p. 420-428. 2013.
- HARUN, R.; DANQUAH, M. K.; FORDE, G. M. Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, 85, p. 199-203. 2010. doi:10.1002/jctb.2287.
- HEILMANN, J.; LOGAN, B. E. Production of electricity from proteins using a Microbial Fuel Cell. **Water Environment Research**, 78(5), p. 531–537. 2006. DOI:10.2175/106143005X73046.
- HIRANO, A.; UEDA, R.; HIRAYAMA, S.; OGUSHI, Y. CO₂ fixation and ethanol production with microalgae photosynthesis and intracellular anaerobic fermentation. **Energy**, 22, p. 137-142. 1997.

- HONGYANG, S.; YALEI, Z.; CHUNMIN, Z.; XUEFEI, Z.; JINPENG, L. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater. **Bioresource Technology**, 102(21), p. 9884–9890. 2011. doi:10.1016/j.biortech.2011.08.016.
- HUANG, C.-C.; HUNG, J.-J.; PENG, S.-H.; CHEN, C.-N. N. Cultivation of a thermo-tolerant microalga in an outdoor photobioreactor: influences of CO₂ and nitrogen sources on the accelerated growth. **Bioresource Technology**, 112, p. 228-233, 2012. doi:10.1016/j.biortech.2012.02.078.
- HULATT, C. J.; THOMAS, D. N. Productivity, carbon dioxide uptake and net energy return of microalgal bubble column photobioreactors. **Bioresource Technology**, 102(10), p. 5775–5787. 2011. doi:10.1016/j.biortech.2011.02.025.
- JAYATHILAKAN, K.; SULTANA, K.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A. S. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. **Journal of Food Science and Technology**, 49(3), p. 278–293. 2012. doi:10.1007/s13197-011-0290-7.
- JIANG, L., LUO, S., FAN, X., YANG, Z., GUO, R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. **Applied Energy**, 88, p. 3336-3341, 2011.
- JORQUERA, O.; KIPERSTOK, A.; SALES, E.A.; EMBIRUCU, M.; GHIRARDI, M.L. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. **Bioresource Technology**, 101 (4), p. 1406-1413, 2010.
- KAJIWARA, S.; YAMADA, H.; NARUMASA, O. Design of the bioreactor for carbon dioxide fixation by *Synechococcus* PCC7942, **Energy Conversion and Management**. 38, p. 529–532. 1997.
- KAPLAN, D.; CHRISTIAEN, D.; ARAD, S. Binding of heavy metals by algal polysaccharides. In: Stadler, T., Mollion, J., Verdus, M.C., Karamanos, Y., Morvan, H., Christiaen, D. (Eds.), **Algal Biotechnology**, Elsevier Applied Science, London, pp. 179–187, 1988.
- KETHEESAN, B.; NIRMALAKHANDAN, N. Feasibility of microalgal cultivation in a pilot-scale airlift-driven raceway reactor. **Bioresource Technology**, 108, p. 196–202, 2012.
- KUMAR, M. S.; MIAO, Z. H.; WYATT, S. K. Influence of nutrient loads, feeding frequency and inoculum source on growth of *Chlorella vulgaris* in digested piggery effluent culture medium. **Bioresource Technology**, 101, p. 6012-6018, 2010.
- LAU P. S.; TAM N. F. Y.; WONG Y. S. Effect of algal density on nutrient removal from primary settled wastewater. **Environmental Pollution**, 89, p. 59-66, 1995.
- LI, X.; HU, H. Y.; YANG, J. Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. **Ecological Engineering**, 36, p. 379–81, 2010.

- LI, X.; ZHU, N.; WANG, Y.; LI, P.; WU, P.; WU, J. Animal carcass wastewater treatment and bioelectricity generation in up-flow tubular microbial fuel cells: effects of HRT and non-precious metallic catalyst. **Bioresource Technology**, 128, p. 454-460, 2013.
- LI, Y. Q.; HORSMAN, M.; WANG, B.; WU, N.; LAN, C. Q. Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga *Neochloris oleoabundans*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 81 (4), p. 629–636, 2008.
- LI, Y.; CHEN, Y. F.; CHEN, P.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B.; ZHU, J.; RUAN, R. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**. 102, p. 5138-5144. 2011.
- LI, Y.-R.; TSAI, W.-T.; HSU, Y.-C.; XIE, M.-Z.; CHEN, J.-J. Comparison of autotrophic and mixotrophic cultivation of green microalgal for biodiesel production. **Energy Procedia** 52, p. 371-376, 2014.
- LIM, C. Y.; CHEN, C. L.; WANG, J. Y. A strategy for urban outdoor production of high-concentration algal biomass for green biorefining. **Bioresource Technology**, 135, p. 175-181. 2013.
- LIM, S. J.; KIM, S. H.; FOX, P. Biological nutrient removal from meat packing wastewater with a unique sequence of suspended growth and fixed-film reactors. **Water Science and Technology**, 60(12), p. 3189-3197, 2009. doi: 10.2166/wst_2009.603.
- LIU, D.; WU, X.; CHANG, J.; GU, B.; MIN, Y.; GE, Y.; SHI, Y; XUE, H.; PENG, C.; WU, J. Constructed wetlands as biofuel production systems. **Nature Climate Change**, Letter, 2, p. 190-194. 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/nclimate/journal/v2/n3/full/nclimate1370.html>>. Acesso em: 10/10/2014.
- LOMBARDI, A. T.; WANGERSKY, P. J. Influence of phosphorus and silicon on lipid class production by the marine diatom *Chaetoceros gracilis* grown in turbidostat cage cultures. **Marine Ecology Progress Series**, 77, p. 39-47. 1991.
- LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas - princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.
- MAGALHÃES, A. B. S. Taxonomia, estrutura e dinâmica do fitoplâncton e do zooplâncton em um sistema piloto de tratamento de esgoto sanitário em lagoas de polimento. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*. Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2011.
- MAHAPATRA, M. D.; CHANAKYA, H. N.; RAMACHANDRA, T. V. Bioresource technology bioremediation and lipid synthesis through mixotrophic algal consortia in municipal wastewater. **Bioresource Technology**, 168, p. 142–150, 2014.

- MARKOU, G.; CHATZIPAVLIDIS, I.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in olive-oil mill wastewater treated with sodium hypochlorite. **Bioresource Technology**, 112, p. 234-241, 2012. doi:10.1016/j.biortech.2012.02.098.
- MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. **Applied Energy**, 88, p. 3389–3401, 2011.
- MARQUES, S. S. I.; NASCIMENTO, I. A.; DE ALMEIDA, P. F.; CHINALIA, F. A. Growth of *Chlorella vulgaris* on sugarcane vinasse: the effect of anaerobic digestion pretreatment. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 171(8), p. 1933–1943. 2013. doi:10.1007/s12010-013-0481-y.
- MARTIN, C.; DE LA NOUN, J.; PICARD, G. Intensive cultivation of freshwater microalgae on aerated pig manure. **Biomass**, 7, p. 245–259. 1985.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 14(1), p. 217–232. 2010. doi:10.1016/j.rser.2009.07.020.
- MIDDLEBROOKS, J. E. **Industrial Pollution Control**. Vol 1: Agro-industries. New York: John Wiley & Sons. 1979.
- MOLINA, E., FERNÁNDEZ, F. G., ÁCIEN, F. G., CHISTI, Y. Tubular photobioreactor design for algal cultures. **Journal of Biotechnology**, 92, p. 113-131, 2001.
- MONCADA, J.; TAMAYO, J. A.; CARDONA, C. A. Integrating first, second, and third generation biorefineries: Incorporating microalgae into the sugarcane biorefinery. **Chemical Engineering Science**, 118, p. 126-140, 2014.
- MULBRY, W.; KONDRAD, S.; BUYER, J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different manure loading rates. **Journal of Applied Phycology**, 20(6), 1079–1085. 2008. doi:10.1007/s10811-008-9314-8.
- MULBRY, W.; WESTHEAD, E. K.; PIZARRO, C.; SIKORA, L. (2005). Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. **Bioresource Technology**, 96(4), p. 451–458. 2005. doi:10.1016/j.biortech.2004.05.026.
- MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, 40, p. 2799 – 2815. 2006.
- NEDERLANDS NORM (NEN). NEN 6520. **Norma holandesa sobre determinação de clorofila a pelo método do etanol**, 1981.
- NUSH, E. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Archiv für Hydrobiologie**., v. 4, p. 14-36, 1980.
- OLIVIERI, G.; GARGANO, I.; ANDREOZZI, R.; MAROTTA, R.; MARZOCHELLA, A.; PINTO, G.; POLLIO, A. Effects of

- photobioreactors design and operating conditions on *Stichococcus bacillaris* biomass and biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**, 74, p. 8–14, 2013.
- OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, 114, p. 542–548, 2012.
- PACHECO, J. W. **Guia técnico ambiental de frigoríficos – industrialização de carnes (bovina e suína)**. São Paulo: CETESB, 2006.
- PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, 61(3), p. 633- 639. 2010.
- PARK, S.; LI, Y. Evaluation of methane production and macronutrient degradation in the anaerobic co-digestion of algae biomass residue and lipid waste. **Bioresource Technology**, 111, p. 42-28, 2012.
- PECCIA J.; HAZNEDAROGLU B.; GUTIERREZ J.; ZIMMERMAN J.B. Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. **Trends in Biotechnology**, 31(3), p. 134-138. 2013.
- PEGALLAPATI, A. K.; ARUDCHELVAM, Y.; NIRMALAKHANDAN, N. Energetic Performance of Photobioreactors for algal cultivation. Brief Review. **Environmental Science Techonology**. Lett., 1 (1), p. 2-7. 2014. doi: 10.1021/ez400079f.
- PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, 45, p. 11-36, 2011.
- PICOT, B.; EL HOLOUANI, H.;CASELLAS, C. MOERSIDIK, S. BONTOUX, J. Nutrient removal by high rate pond system in a Mediterranean Climate (France). **Water Science Technology**, 23, p. 1535-1541, 1991.
- PIRES, J. C. M.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; MARTINS, F. G.; SIMÕES, M. Wastewater treatment to enhance the economic viability of microalgae culture. **Environmental Science Pollution Research**, 20(8), p. 5096-5105, 2013.
- PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**. 102, pp 17-25, 2011.
- PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 24, p. 159–171. 2013. doi:10.1016/j.rser.2013.03.034.
- PRUVOST, J.; VAN VOOREN, G.; COGNE, G.; LEGRAND, J. Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor. **Bioresource Technology**, 100, p. 5988–5995, 2009.

- PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. Mini-Review. **Applied Microbiology Biotechnology**, 57, p. 287-293. 2001. doi: 10.1007/s002530100702.
- QUEIROZ, M. I.; HORNES, M. O.; MANETTI, A. G. S.; ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E. Fish processing wastewater as a platform of the microalgal biorefineries. **Biosystems Engineering**, 115, p. 195-202, 2013.
- REHMAN, A.; SHAKOORI, A. R. Heavy metal resistance *Chlorella* spp., isolated from tannery effluents, and their role in remediation of hexavalent chromium in industrial waste water. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 66, p. 542–547, 2001. DOI: 10.1007/s00128-001-0041-y.
- RENUKA, N.; SOOD, A.; RATHA, S. K.; PRASANNA, R.; AHLUWALIA, A. S. Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. **Journal of Applied Phycology**, 25, p. 1529–1537, 2013. Doi: 10.1007/s10811-013-9982-x.
- REYNOLDS, C. S. The ecology of freshwater phytoplankton. Cambridge: Cambridge University Press, p. 157-191. 1984.
- ROCHA, E. O.; CALIJURI, M. L.; SANTIAGO, A. F.; ASSIS, L. C.; ALVES, L. G. S. The contribution of conservation practices in reducing runoff, soil loss, and transport of nutrients at the watershed level. **Water Resource Management**, 26, p. 3831–3852, 2012. DOI 10.1007/s11269-012-0106-1.
- RODOLFI, L.; ZITTELLI, G.C.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M.R. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, 102, p. 100-112, 2009.
- RODRIGUES, D. B.; FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; MERCADANTE, A. Z. JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Production of carotenoids from microalgae cultivated using agroindustrial wastes. **Food Research International**, 65, p. 144-148, 2014.
- RUIZ-MARIN, A.; MENDOZA-ESPINOSA, L.G.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**, 101, p. 58-64, 2010.
- RUIZ-MARTINEZ, A.; GARCIA, N. M.; ROMERO, I.; SECO, A.; FERRER, J. Microalgae cultivation in wastewater: Nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. **Bioresource Technology**, 126, p. 247-253. 2012.
- SÁNCHEZ MIRÓN, A.; CAMACHO, F. G.; GÓMEZ, A. C.; GRIMA, E. M.; CHISTI, Y. Bubble-Column and Airlift Photobioreactors for algal culture. **American Institute of Chemical Engineers**, 46(9), p. 1872-1887, 2000.
- SÁNCHEZ VILLASCLARAS, S., MARTÍNEZ SANCHO, M.E., ESPEJO CABALLERO, M.T., DELGADO PÉREZ, A. Production of microalgae from olive mill wastewater. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 38 (3–4), p. 245-247, 1996.

- SANTIAGO, A. F.; CALIJURI, M. L.; ASSEMAN, P. P.; CALIJURI, M. C.; REIS, A. J. D. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. **Environmental Technology**, 34 (13-14), p. 1877-1885, 2013.
- SCHENK, P.; THOMAS-HALL, S.; STEPHENS, E.; MARX, U.; MUSSGUNG, J.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high efficiency microalgae for biodiesel production. **BioEnergy Research**, 1, p. 20-43. 2008.
- SEARCHINGER, T.; HEIMLICH, R.; HOUGHTON, R.A.; DONG, F.; ELOBEID, A.; FABIOSA, J.; TOKGOZ, S.; HAYES, D.; YU, T. Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land-use change. **Science**, 319, p. 1238-40. 2008.
- SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. Advancements in development a characterization of biodiesel: A review. **Fuel**, 87 p. 2355–2373. 2008.
- SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. **Bioresource Technology**, 154, p. 260–266. 2014. doi:10.1016/j.biortech.2013.11.100.
- SIERRA, E.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; GARCÍA, J. L.; GONZÁLEZ, C.; MOLINA, E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. **Chemical Engineering Journal**, 138, p. 136-147, 2008.
- SIRÓN, R., GIUSTI, G., BERLAND, B. Changes in the fatty acid composition of *Phaeodactylum tricornutum* and *Dunaliella tertiolecta* during growth and under phosphorus deficiency. **Marine Ecology Progress Series**, 55, p. 95-100. 1989.
- SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 101, p. 87-96. 2006.
- SUBHADRA, B. G.; EDWARDS, M. Coproduct market analysis and water footprint of simulated commercial algal biorefineries. **Applied Energy**, 88(10), p. 3515–3523. 2011. doi:10.1016/j.apenergy.2010.12.051.
- SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, 53, 271-281. 2014.
- SYDNEY, E. B.; DA SILVA, T. E.; TOKARSKI, A.; NOVAK, A. C.; DE CARVALHO, J. C.; WOICIECHOWSKI, A. L. Screening of microalgae with potential for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. **Applied Energy**, 88, p. 3291–3294, 2011.
- TAM, N. F. Y., WONG, Y. S. Wastewater nutrient removal by *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus* sp. **Environmental Pollution**, 58, p. 19-34. 1989.

- TANG, H.; ABUNASSER, N.; GARCIA, M. E. D. Potential of microalgae oil from *Dunaliella tertiolecta* as a feedstock for biodiesel. **Applied Energy**, 88 (10): p. 3324-3330, 2011.
- TORZILLO, G.; PUSHPARAJ, B.; BOCCI, F.; BALLONI, W.; MATERASSI, R.; FLORENZANO, G. Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. **Biomass**, 11, p. 61–74, 1986.
- TREDICI, M. R.; MATERASSI, R. From open ponds to vertical alveolar panels: the Italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms. **Journal of Applied Phycology**, 4, p. 221–231. 1992.
- TREDICI, M. R.; RODOLFI, L. **Reactor for industrial culture of photosynthetic microorganisms**. World Patent WO 2004/074423 A2 (to Università degli Studi di Firenze, Italia), 2004. Disponível em: <http://www.lens.org/lens/patent/WO_2004_074423_A2>. Acesso em: 14/01/2015.
- UGGETTI, E.; SIALVE, B.; TRABLY, E.; STEYER, J. Integrating microalgae production with anaerobic digestion: a biorefinery approach. © 2014 Society of Chemical Industry and John Wiley & Sons, Ltd. **Biofuels, Bioprod. Bioref**, 8, p. 516–529. 2014. DOI: 10.1002/bbb 517.
- UGWU C. U.; OGBONNA, J. C.; TANAKA, H. Characterization of light utilization and biomass yields of *Chlorella sorokiniana* in inclined outdoor tubular photobioreactors equipped with static mixers. **Process Biochemistry**, 40, p. 3406–3411, 2005.
- UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Influence of irradiance, dissolved oxygen concentration, and temperature on the growth of *Chlorella sorokiniana*. **Photosynthetica**, 45 (2), p. 309-311, 2007.
- UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, 99, p. 4021-4028, 2008.
- UTHERMÖL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton – methodic mitt. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**, v. 9, p. 1-38. 1958.
- VALDÉS, F.J.; HERNÁNDEZ, M.R.; CATALÁ, L.; MARCILLA. A. Estimation of CO₂ stripping/CO₂ microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to *Nannochloropsis oculata* microalgae culture. **Bioresource Technology**, 119, p. 1–6, 2012.
- VASUMATHI, K. K.; PREMALATHA, M.; SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactors for the growth of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 16, p. 5443-5450, 2012.
- VERHEIJEN, L. A. H. M.; WIERSEMA, D.; HULSHOFF POL, L. W. Management of Waste from Animal Product Processing. **J. De Wit International Agriculture Centre Wageningen**, The Netherlands, January, 1996.

- WANG, B.; LAN, C. Q.; HORSMAN, M. Closed photobioreactor for production of microalgal biomasses. **Biotechnology Advances**, 30, p. 904-912. 2012.
- WANG, L.; MIN, M.; LI, Y.; CHEN, P.; CHEN, Y.; LIU, Y., ... RUAN, R. Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 162(4), p. 1174–1186. 2010. doi:10.1007/s12010-009-8866-7.
- WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. An outlook on microalgal biofuels. **Science** 329, 796–799. 2010.
- WOERTZ, I.; FEFFER, A.; LUNDQUIST, T.; NELSON, Y. Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock. **Journal of Environmental Engineering**, 135(11), p. 1115–1122. 2009. doi:10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000129.
- WULF, S. First Summer School on Sustainable Agriculture, Bonn, Germany, August, 2005.
- XIN, L.; HONG-YING, H.; JIA, Y. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluents. **New Biotechnology**, 27(1), 2010b.
- XIN, L.; HONG-YING, H.; KE, G. JIA, Y. Growth and nutrient removal properties of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. LX1 under different kinds of nitrogen sources. **Ecological Engineering**, 36 (4), p. 379-381, 2010a.
- YANG, Z.; GUO, R.; XU, X.; FAN, X.; LUO, S. Hydrogen and methane production from lipid-extracted microalgal biomass residues. **International Journal of Hydrogen Energy**, 36(5), p. 3465–3470. 2011. doi:10.1016/j.ijhydene.2010.12.018.
- ZAID-ISO. Water pollution in the Natural Rubber Industry. **Special coordination Meeting of the working group on environmental biotechnology**. Kuala Lumpur, October 1990.
- ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for nutrient immobilization in a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource Technology**, 130. p. 152-160. 2013.
- ZHU, J.; RONG, J.; ZONG, B. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. **Chinese Journal of Catalysis**, 34, p. 80-100, 2013.
- ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 41, p. 1376–1384. 2015. doi:10.1016/j.rser.2014.09.040.
- ZHU, L. D.; HILTUNEN, E.; ANTILA, E.; ZHONG, J. J.; YUAN, Z. H.; WANG, Z. M. Microalgal biofuels: Flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 30, p. 1035–1046. 2014a. doi:10.1016/j.rser.2013.11.003.
- ZHU, L.; HILTUNEN, E.; SHU, Q.; ZHOU, W.; LI, Z.; WANG, Z. Biodiesel production from algae cultivated in winter with artificial wastewater

through pH regulation by acetic acid. **Applied Energy**, 128, p. 103–110. 2014b. doi:10.1016/j.apenergy.2014.04.039.

ZHU, L.; WANG, Z.; SHU, Q.; TAKALA, J.; HILTUNEN, E.; FENG, P.; YUAN, Z. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. **Water Research**, 47(13), p. 4294–302. 2013. doi:10.1016/j.watres.2013.05.004.