

AMANDA DIAS

**RECUPERAÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus* sp. POR MEIO DE
DIFERENTES COAGULANTES NATURAIS**

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

Orientador: Alisson Carraro Borges

Coorientadores: André Pereira Rosa
Márcio Arêdes Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2020**

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

T

D541r
2020
Dias, Amanda, 1993-
Recuperação da microalga *Scenedesmus* sp. por meio de
diferentes coagulantes naturais / Amanda Dias. – Viçosa, MG,
2020.
77 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Alisson Carraro Borges.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Microalga. 2. Quitosana. 3. *Moringa oleifera*. 4.
Guazuma ulmifolia. 5. Superfícies de resposta (Estatística).
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia
Agrícola. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola.
II. Título.

CDD 22. ed. 579.8

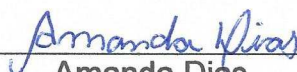
AMANDA DIAS

**RECUPERAÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus* sp. POR MEIO DE
DIFERENTES COAGULANTES NATURAIS**

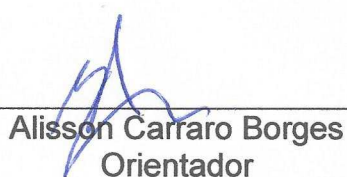
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de fevereiro de 2020.

Assentimento:



Amanda Dias
Autora



Alisson Carraro Borges
Orientador

*Dedico a minha mãe, Edilma, principal
incentivadora de minha trajetória.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por conduzir meus passos e providenciar cada detalhe de minha trajetória, ser fonte de força, amparo e serenidade em todos os momentos. A Nossa Senhora, pela intercessão e proteção constante.

Agradeço a minha mãe, pelas renúncias, incentivo, zelo e amor. Por não me deixar desanimar em nenhum momento e ser exemplo de mulher forte e determinada.

Ao meu pai, porto-seguro, pelo amor, cuidados e preocupação. A Madrinha e Tó, que com carinho materno, me deram suporte para superar as saudades de casa. A toda minha família, por dividirem comigo as alegrias e dificuldades de cada desafio.

A Bruno, por me ensinar a ter calma e paciência, incentivar minha formação pessoal e profissional e amparar meus medos e preocupações sempre com amor.

Aos amigos, que se fizeram presentes durante minha estadia em Viçosa, sempre com afeto e alegria. À Cecília, por partilhar cada passo, confidências e dar apoio e incentivo constante. A Gustavo, ombro amigo, incentivador dessa incrível experiência, por me animar em todos os momentos, pelas horas de descontração e por estar sempre disponível para esclarecer dúvidas. À Priscila, pelo auxílio desde minha chegada em Viçosa, por todos os bons momentos compartilhados, carinho e cuidados.

Às amigas da república, onde dividimos tantos bons momentos. A Rafaela e Letícia, por se tornarem irmãs, sempre preocupadas em cuidar de mim e ajudar em tudo que foi preciso.

Não seria possível realizar esse trabalho sem o apoio de excelentes profissionais e colegas.

Ao meu orientador, Alisson, pela confiança, por ensinar com paciência, estar sempre disponível para ajudar, ser exemplo de profissional e conceder diversas oportunidades de aprendizado durante o mestrado.

Aos meus coorientadores, André Rosa, pelo apoio e sugestões e a Marcio Arêdes por enriquecer esse trabalho e ceder com cordialidade o Laboratório de Biocombustíveis para a realização dos experimentos.

A Dilson, por compartilhar conhecimentos, sugestões, “injeções de ânimo” durante os trabalhos, e por sempre me receber tão bem no laboratório.

A todos do Laboratório de Biocombustíveis, pela generosidade e carinho, disponíveis a ajudar em todos os momentos. A Victor, por compartilhar informações, pela simpatia e receptividade.

Aos colegas e amigos do Laboratório da Qualidade Ambiental, pelos tantos momentos de descontração, risos e trocas de experiências. A Lucas, pela amizade, apoio e cavalheirismo. A Amanda Braga, Ana Paula, Juciara e Letícia pela amizade, carinho, ternura e descontração nos bares de Viçosa.

Aos estagiários, Sjoerd e Joost, pela incrível troca de experiências, pela paciência em nossa comunicação e ajuda no laboratório.

A todos os funcionários do DEA, sempre solícitos. Ao técnico do LQA, Simão e, ao secretário da pós, Rafael, pelo auxílio e boa vontade em ajudar.

Ao Laboratório de Embalagens e Laboratório de Química da UFV, por concederem espaço para realização de importantes análises desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A humanidade deve proteger o tesouro da criação e empenhar-se na luta contra o uso indiscriminado dos bens da Terra.”

(Papa Bento XVI)

RESUMO

DIAS, Amanda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2020. **Recuperação da microalga *Scenedesmus* sp. por meio de diferentes coagulantes naturais.** Orientador: Alisson Carraro Borges. Coorientadores: André Pereira Rosa e Márcio Arêdes Martins.

A coagulação-floculação pode ser usada para recuperação de microalgas, tendo em vista sua eficiência, simplicidade e custos reduzidos. Por meio da adição de coagulantes é possível desestabilizar as cargas superficiais das microalgas e recuperar sua biomassa. O uso de coagulantes químicos, como poliacrilamida, podem causar contaminações ao ambiente e danos à saúde humana. Portanto, estudos com coagulantes naturais como quitosana, *Moringa oleifera* e *Guazuma ulmifolia*, são inovadores. Dessa forma, nesse trabalho objetivou-se avaliar a eficiência da separação da biomassa da microalga *Scenedesmus* sp. por meio da coagulação-floculação, utilizando-se poliacrilamida, quitosana, *M. oleifera* e *G. ulmifolia*, otimizando-se as condições por meio de delineamento composto central rotacional. Poliacrilamida e quitosana apresentaram eficiências superiores a 90% e 70%, respectivamente. As doses ótimas foram 13,3 mg L⁻¹ de polímero sintético e 5 mg L⁻¹ de quitosana, e pH ótimo de 6,5, faixa natural das microalgas. A quitosana é considerada onerosa em escala plena devido aos elevados custos de aquisição. Em relação à *M. oleifera* e *G. ulmifolia*, estudou-se dose, pH e tempo de sedimentação como variáveis independentes. Encontraram-se eficiências superiores a 70% e 60%, respectivamente. As doses ótimas obtidas foram de 80 mg L⁻¹ de *M. oleifera* e 30 mg L⁻¹ de *G. ulmifolia*, ambos em pH 4, e tempos de sedimentação de 30 e 3 min para *M. oleifera* e *G. ulmifolia*. Assim, esses coagulantes naturais são promissores e podem ser utilizados na coagulação-floculação para recuperação de biomassa de *Scenedesmus* sp., minimizando o uso de coagulantes sintéticos.

Palavras-chave: Quitosana. *Moringa oleifera*. *Guazuma ulmifolia*. DCCR.

ABSTRACT

DIAS, Amanda, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2020. ***Scenedesmus* sp. microalgae recovery by different natural coagulants**. Adviser: Alisson Carraro Borges. Co-advisers: André Pereira Rosa and Marcio Arêdes Martins.

Coagulation-flocculation can be used for microalgae recovery, considering its efficiency, simplicity and low costs. Through the addition of coagulants, it is possible to destabilize the microalgae surface loads and recover their biomass. The use of chemical coagulants, such as polyacrylamide, can cause environmental contamination and damage to human health. Therefore, studies with natural coagulants such as chitosan, *Moringa oleifera* and *Guazuma ulmifolia*, are innovative. Thus, this study aimed to evaluate the efficiency of *Scenedesmus* sp. biomass recovery through coagulation-flocculation, using polyacrylamide, chitosan, *M. oleifera* and *G. ulmifolia*, optimizing the conditions through central composite rotational design. Polyacrylamide and chitosan presented efficiencies >90% and >70%, respectively. The optimum doses were 13.3 mg L⁻¹ of synthetic polymer and 5 mg L⁻¹ of chitosan, and an optimum pH of 6.5, the natural range of microalgae. Chitosan was considered unfeasible on a full scale due to high acquisition costs, so other natural coagulants should be studied. Regarding *M. oleifera* and *G. ulmifolia*, dose, pH and settling time were studied as independent variables. Efficiencies above 70% and 60% were found, respectively. The optimal doses obtained were 80 mg L⁻¹ of *M. oleifera* and 30 mg L⁻¹ of *G. ulmifolia*, both at pH 4, and settling times of 30 and 3 min for *M. oleifera* and *G. ulmifolia*. Thus, these natural coagulants are promising and they can be used in coagulation-flocculation to recover *Scenedesmus* sp. biomass, minimizing the use of synthetic coagulants.

Keywords: Chitosan. *Moringa oleifera*. *Guazuma ulmifolia*. CCRD.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 – Representação dos mecanismos (a) neutralização de cargas, (b) mecanismo <i>patch</i> , (c) formação de pontes, (d) varredura	19
Figura 3.1 - Etapas de coagulação-floculação em Jar teste.....	35
Figura 3.2 – Curva de crescimento das microalgas.....	38
Figura 3.3 – Variação de pH ao início e final dos ensaios com quitosana.....	41
Figura 3.4 – Efeito de Pareto para densidade óptica removida utilizando-se (a) polímero sintético poliacrilamida e (b) quitosana, a nível de 5 e 10% de probabilidade.....	45
Figura 3.5 – Gráfico de contorno demonstrando o efeito do pH e da dose de (a) polímero sintético e (b) quitosana para remoção de microalgas.....	47
Figura 4.1 - Etapas de coagulação-floculação utilizando-se <i>Jar test</i>	58
Figura 4.2 – Coagulação-floculação de microalgas sem adição de <i>M.oleifera</i> (à esquerda) e com coagulante (à direita) correspondentes aos ensaios 9 e 11, respectivamente (Tabela 4.2).....	61
Figura 4.3 – Coagulação-floculação de microalgas sem adição de <i>G. ulmifolia</i> (à esquerda) e com coagulante (à direita) correspondentes aos ensaios 9 e 11, respectivamente (Tabela 4.3).....	62
Figura 4.4 – Efeito de Pareto para densidade óptica removida utilizando-se (a) <i>M. oleifera</i> e (b) <i>G. ulmifolia</i> , a nível de 5 e 10% de significância.....	63
Figura 4.5 – Gráfico de contorno demonstrando o efeito da dose, pH e tempo de sedimentação utilizando-se <i>M. oleifera</i> para (a) interação Dose e pH (b) Dose e tempo de sedimentação (c) pH e tempo de sedimentação.....	65
Figura 4.6 – Gráfico de contorno demonstrando (a) o efeito da dose e pH utilizando-se <i>G. ulmifolia</i> (b) efeito de dose e pH em escala ampliada.....	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Coagulantes verdes mais relatados na literatura nos últimos 5 anos para recuperação de diferentes espécies de microalgas.....	24
Tabela 3.1 - Proporções de fertilizantes do meio de cultivo L4-m.....	33
Tabela 3.2 – Níveis codificados e reais das variáveis independentes no DCCR.....	37
Tabela 3.3 – Eficiências encontradas na coagulação floculação de <i>Scenedesmus sp.</i> utilizando-se polímero sintético poliacrilamida e polímero natural quitosana.....	39
Tabela 3.4 – Potencial zeta dos coagulantes e microalga.....	42
Tabela 4.1 – Níveis codificados e reais das variáveis independentes no DCCR.....	59
Tabela 4.2 – Níveis reais dos fatores estudados, remoção da densidade óptica e eficiência de remoção da <i>M. oleifera</i>	60
Tabela 4.3 - Níveis reais dos fatores estudados e remoção da densidade óptica, seguidos por eficiência de <i>G. ulmifolia</i>	62
Tabela 4.4 – Potencial zeta dos coagulantes e microalga.....	69

CONTEÚDO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2.1 INTRODUÇÃO	16
2.2.1 Mecanismos de ação de coagulação-floculação com coagulantes verdes	18
2.3 COAGULANTES.....	19
2.3.1 Coagulantes verdes.....	20
2.4 CONCLUSÃO	27
2.5 REFERÊNCIAS.....	28
3 ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO: Otimização simultânea de pH e dose dos coagulantes poliacrilamida e quitosana na recuperação de <i>Scenedesmus</i> sp.	31
3.1 INTRODUÇÃO	31
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.2.1 Cultivo de microalgas	33
3.2.2 Obtenção e preparo dos coagulantes	33
3.2.3 Determinação da densidade óptica	34
3.2.4 Determinação da eficiência de coagulação-floculação.....	35
3.2.5 Análise do potencial zeta.....	36
3.2.6 Planejamento experimental	36
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.3.1 Avaliação do crescimento das microalgas.....	37
3.3.2 Eficiência dos coagulantes	38
3.3.3 Análise do potencial zeta e mecanismos de coagulação	41
3.3.4 Obtenção do modelo de predição e das superfícies de resposta.....	44
3.4 CONCLUSÕES	48
3.5 REFERÊNCIAS.....	50
4 ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO: Otimização da recuperação da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. com uso de coagulantes obtidos a partir das plantas <i>M. oleífera</i> e <i>G. ulmifolia</i>	54
4.1 INTRODUÇÃO	54
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	56
4.2.1 Cultivo de microalgas, preparo dos coagulantes e quantificação de células....	56
4.2.2 Determinação da eficiência de coagulação-floculação.....	57
4.2.3 Análise do potencial zeta.....	58
4.2.4 Planejamento experimental	58
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59

4.3.1 Resultados da eficiência de coagulação-floculação	59
4.3.2 Obtenção dos modelos preditivos	63
4.3.3 Desempenho dos coagulantes utilizados	64
4.3.4 Análise do Potencial zeta	69
4.4 CONCLUSÕES	70
4.5 REFERÊNCIAS.....	72
5. CONCLUSÃO GERAL E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77

1 INTRODUÇÃO GERAL

A dificuldade de recuperação de biomassa de microalgas, devido ao seu tamanho microscópico e estabilidade em meio aquoso, demanda estudos a fim de alcançar eficiência com custos razoáveis. O interesse nessa biomassa se deve ao acúmulo de lipídios, proteínas e carboidratos nas células, que podem ser usados para produção de biocombustíveis, na indústria de cosméticos e na alimentação humana e animal.

A combinação da coagulação-floculação é indicada como técnicas simples e de baixo custo, comparada à centrifugação, sendo desejável a fim de promover eficiência e reduzir custos com o processo. A coagulação-floculação é realizada em três fases. Na primeira, ocorre agitação rápida da suspensão, com a adição de um produto coagulante. Na segunda, é necessária a agitação lenta, promovendo a agregação das células e formação de flocos, passíveis de sedimentação. Na terceira fase, a sedimentação das células ocorre devido à diferença de densidade dos flocos e da água, e é possível separar a biomassa do meio aquoso. Embora as células de microalgas possam se sedimentar naturalmente nos cultivos, esse processo é lento e ocorre quando as células atingem o ponto máximo de crescimento e entram em senescência, que compreende em estado fisiológico no qual as células são inviáveis para comercialização.

Por essa razão, é desejável o uso de coagulantes, visando rápida recuperação de biomassa, além de permitir recuperação de células viáveis, especialmente na fase em que há maior acúmulo de lipídeos e carboidratos, denominada fase estacionária. A adição dos coagulantes à suspensão de microalgas promove desestabilização das cargas superficiais das células, por mecanismos físicos, como adsorção, e químicos, como neutralização de cargas, formação de pontes, formação de mosaico (mecanismo *patch*) e varredura. Pode ser difícil identificar a ocorrência isolada de um mecanismo, uma vez que esses agem em conjunto e dependem das características do coagulante usado.

Sais químicos, como o coagulante sulfato de alumínio, e polímeros sintéticos, como a poliacrilamida, são eficazes para recuperação de microalgas, mas podem ser problemáticos, pois, dependendo da finalidade da biomassa, esses compostos podem ser fonte de contaminação, tanto da biomassa, quanto do meio ambiente. A poliacrilamida, por exemplo, pode liberar o monômero acrilamida, que é

cancerígeno e provoca problemas neurológicos. Apesar dos riscos citados, a poliacrilamida é muito utilizada na recuperação de microalgas devido ao baixo custo de aquisição e à elevada eficiência.

Com o intuito de reduzir o uso de coagulantes químicos, a aplicação de coagulantes naturais, também chamados de coagulantes verdes, pode reduzir os riscos de contaminação. Esses produtos são derivados de vegetais ou animais, e possuem características como carga superficial ou grupos ativos capazes de promover a coagulação-floculação. Esses coagulantes foram usados inicialmente no tratamento de água para abastecimento e águas residuárias. Devido ao potencial para tratamento de água, expandiu-se o seu uso também para a recuperação de microalgas.

O coagulante natural mais conhecido é a quitosana, relatada como um composto que promove eficiências satisfatórias de recuperação de microalgas devido aos grupos ativos em sua composição, além de carga superficial catiônica.

Já as sementes de *Moringa oleifera* são conhecidas pelo alto teor de proteínas que promovem a desestabilização de cargas de coloides. O preparo das sementes com a finalidade de coagulação-floculação é considerado simples, visto que é necessário, basicamente, secar e triturar as sementes, dissolvendo, posteriormente, em solução salina. A presença dos íons da solução salina, além de ionizar os compostos ativos dos coagulantes naturais, também auxilia na compressão da dupla camada difusa, facilitando a eficiência da coagulação-floculação.

Outra espécie potencial é *Guazuma ulmifolia*, conhecida popularmente como mutambeira. Suas cascas são usadas em comunidades rurais brasileiras para clarificação de rapadura e existem poucos estudos com essa espécie para tratamento de água. Faz-se aprofundar o conhecimento científico a fim de expandir o uso dessa espécie para outras aplicações, como recuperação de microalgas, uma vez que a mutambeira é facilmente encontrada em países da América do Sul.

O desafio de encontrar coagulante natural eficiente e aplicável em escala industrial é ponto de partida para estudos de otimização. A dosagem do coagulante é influenciada pela espécie de microalgas, condições de cultivo, como temperatura, fertilizantes e contaminação da suspensão por cianobactérias. Além disso, o pH do meio é imprescindível para alcançar o maior desempenho do coagulante, visto que

está relacionado com a protonação de grupos ativos responsáveis pela coagulação-floculação.

A fim de otimizar as variáveis que influenciam na coagulação-floculação de microalgas, como dose e pH, ferramentas estatísticas podem ser utilizadas para desenvolver metodologia simples e eficiente. O delineamento composto central rotacional (DCCR) foi desenvolvido para estudar a interação de variáveis com a vantagem de obter menor número de ensaios e resultar em estudos em curto intervalo de tempo. A aplicação desse delineamento na coagulação-floculação de microalgas é desejável devido à necessidade de otimização dos parâmetros que influenciam na eficiência em cada condição de cultivo.

Dessa forma, nesse trabalho objetivou-se estudar e comparar a aplicação de coagulante sintético poliacrilamida e coagulantes naturais quitosana, *M. oleifera* e *G. ulmifolia* para recuperação de biomassa de microalgas da espécie *Scenedesmus* sp. cultivadas no município de Viçosa, estado de Minas Gerais. No estudo agruparam-se os coagulantes de características semelhantes a fim de entender os mecanismos de ação dos mesmos. Assim, estudou-se os polímeros catiônicos sintético e natural, poliacrilamida e quitosana, a fim de otimizar a dose e pH ideal para promover maior eficiência de recuperação de biomassa de *Scenedesmus* sp. Em seguida, estudou-se o coagulante vegetal, sementes de *M. oleifera*, e o potencial de coagulação-floculação de cascas de *G. ulmifolia*, inédito na literatura para recuperação de microalgas, a fim de se obter a dose, pH e tempo de sedimentação que promovem eficiência satisfatória de biomassa, além de explorar o potencial desses coagulantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 INTRODUÇÃO

O desafio do reúso das águas e reaproveitamento de recursos de forma sustentável é amplamente discutido no contexto atual. A coagulação-floculação é uma técnica relativamente simples utilizada para tratamento de água, remoção de cor, compostos orgânicos, micropoluentes, óleos e graxas, além de aplicações para recuperação de microalgas (OLADOJA, 2015; UDOM et al., 2013).

Esse processo consiste em adicionar um produto químico ou natural com propriedades que promovem aumento do tamanho das partículas, consequentemente tem-se elevação da velocidade de sedimentação por gravidade e favorecimento da concentração dos sólidos (DELRUE et al., 2015; GODOS et al., 2011). Coagulantes químicos convencionais, como coagulantes metálicos sulfato de ferro e sulfato de alumínio e polímero sintético poliacrilamida, são preocupantes devido aos resíduos perigosos que podem deixar na água (HAMID et al., 2016).

Dessa maneira, compostos naturais capazes de substituir ou minimizar compostos químicos no processo de coagulação-floculação são estudados para realizar o procedimento de forma limpa e com menor geração de resíduos (AHMAD et al., 2011; CHOY et al., 2018; VANDAMME et al., 2010). Nesse sentido, o estudo de coagulantes naturais, também chamados de coagulantes verdes, os quais são polímeros derivados de plantas ou resíduos de animais, solúveis em água, orgânicos, iônicos (catiônicos ou aniônicos) e não iônicos, são reportados como alternativa para coagulação e separação de sólidos dissolvidos em um meio (SALEEM; BACHMANN, 2019).

A recuperação de microalgas, por sua vez, é estudada devido à capacidade de sintetizar lipídeos, proteínas e carboidratos em curto intervalo de tempo que podem ser destinados a produtos de alta demanda como biocombustível e bioprodutos de alto valor comercial, como antioxidantes e nutracêuticos (HOM-DIAZ et al., 2017). Esses organismos fotossintetizantes são microscópicos, com tamanho na ordem de 2 a 50 μm , possuem baixa densidade celular e carga superficial negativa, devido à presença de hidroxilas e radicais de carbonatos (ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018; NAYAK et al., 2019; RASHID; REHMAN; HAN, 2013b).

Aliar um procedimento viável de recuperação de biomassa de microalgas com a recuperação de recursos, como partes vegetais e resíduos de animais, é uma alternativa para promover o desenvolvimento sustentável. Sendo assim, o uso de

coagulantes naturais para facilitar a recuperação de microalgas cumpre ainda o objetivo de obter biomassa com elevado valor agregado e reduzidos riscos de contaminação. A biomassa microalgal pode ser aproveitada tanto para fins energéticos, quanto para produção de cosméticos, fármacos e emprego na alimentação humana e animal (ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018; HAMID et al., 2016).

A eficiência do coagulante, bem como a dose requerida, é variável e ambas podem depender das diferentes características do sistema, como tipo de espécie de microalga, fase de desenvolvimento, concentração e composição das células, pH e força iônica do meio de cultivo (UDOM et al. 2013). A massa molecular, a composição e a carga eletrostática dos coagulantes também influenciam na aplicabilidade da técnica (UDOM et al., 2013).

Por essas razões, estudos de otimização dos ensaios de coagulação-floculação bem como uso de diferentes coagulantes naturais são reportados na literatura. Na sequência serão apresentados e discutidos aspectos relativos à eficiência e aos atributos de alguns coagulantes naturais relatados em artigos científicos para diferentes espécies de microalgas, bem como seus mecanismos de ação, com o intuito de elucidar algumas lacunas do conhecimento dentro desta temática.

2.2 COAGULAÇÃO-FLOCULAÇÃO

Uma vez que as microalgas têm carga superficial negativa, o que impede a aglomeração das células em suspensão, a adição de coagulantes como polímeros catiônicos pode minimizar as cargas superficiais desses coloides e permitir a aglomeração das células, formando flocos e facilitando sua separação (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019; OLADOJA, 2015). Esse processo, chamado de coagulação-floculação, é considerado de baixo custo, simples e de baixa demanda energética quando se comparado a outras técnicas, como a filtração e centrifugação (GUPTA et al., 2014; OLADOJA, 2015).

Enquanto a coagulação corresponde ao momento em que o coagulante é adicionado tendo-se a desestabilização das cargas, a floculação é a junção das pequenas partículas que formam flocos mais densos e passíveis de separação física (GODOS et al. 2011).

Variáveis como a velocidade e tempo de agitação de cada fase podem influenciar no desempenho do processo de recuperação de biomassa. Em

laboratório, ensaios em jarros (*jar test*) são utilizados para definir a melhor condição de acordo com o tipo de coagulante testado.

Dessa forma, os parâmetros citados são importantes, pois se o tempo e velocidade na etapa de coagulação (fase rápida) não forem suficientes, o coagulante pode não ser completamente dissolvido no meio ou não colidir de forma homogênea com as células (GUTIÉRREZ et al., 2015; HAMID et al., 2016). Na floculação (fase lenta) em condições inadequadas, as partículas podem não ter tempo suficiente para colisão e formação dos flocos, ou ainda há a colisão brusca implicando na quebra dos flocos (GUTIÉRREZ et al., 2015). Em adição, um dos principais fatores intervenientes na eficácia do processo corresponde ao tempo de sedimentação, sendo que a otimização é necessária para permitir que a maior quantidade de flocos seja completamente separada da água, garantindo maior eficiência de recuperação de biomassa (GERCHMAN et al., 2017).

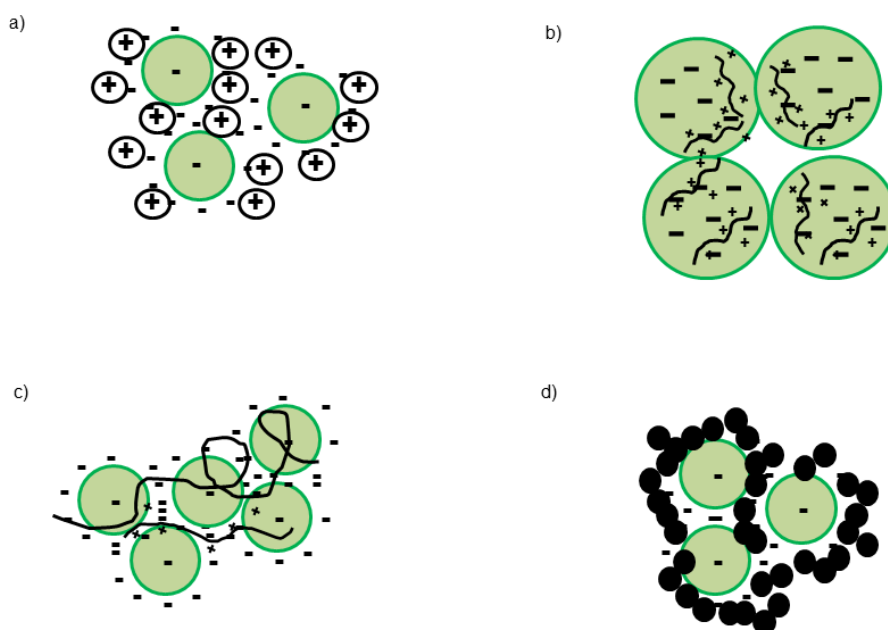
2.2.1 Mecanismos de ação de coagulação-floculação com coagulantes verdes

A natureza das microalgas e do tipo de coagulante natural utilizado age na coagulação-floculação por meio de diferentes mecanismos. A literatura descreve basicamente quatro meios de ação desse tipo de coagulante, que podem agir de forma individualizada ou combinada. Segundo Bolto e Gregory (2007), Bratby (2016) e Vandamme (2013) os principais mecanismos envolvidos nos processos de coagulação-floculação são:

- i) neutralização: as células carregadas negativamente adsorvem fortemente íons ou polímeros carregados positivamente (Figura 2.1a);
- ii) mecanismo de mosaico (*patch*) eletrostático: polímero carregado faz ligações com células de microalgas de carga oposta, assim, o polímero tem localmente a sua carga superficial invertida, resultando em manchas de carga oposta na superfície. Dessa forma, as células se conectam umas com as outras através dos caminhos de cargas opostas promovendo a floculação (Figura 2.1b). Para Bolto e Gregory (2007) esse mecanismo é considerado como efeito da neutralização.
- iii) mecanismo de ponte: ocorre quando polímeros de cargas semelhantes aos coloides interagem pela adsorção de compostos na superfície coloidal e ligam essas espécies, formando pontes entre as células (Figura 2.1c).

iv) varredura: quando há precipitação de minerais, como hidróxidos metálicos, presentes no meio de cultivo, tendo-se o arrastamento das células de microalgas (Figura 2.1d).

Figura 2.1 – Representação dos principais mecanismos associados à coagulação-floculação: (a) neutralização de cargas, (b) mecanismo *patch*, (c) formação de pontes, (d) varredura



Fonte: Do autor (2020).

2.3 COAGULANTES

Em geral, a coagulação-floculação pode ser induzida por coagulantes metálicos, polímeros inorgânicos e polímeros orgânicos (sintéticos ou naturais). O uso de coagulantes químicos pode ser usado quando não há restrição de demanda do uso do sobrenadante e da biomassa recuperada (CHEN et al., 2013). Entretanto, devido ao risco de contaminação ambiental, minimizar o uso desses insumos químicos pode eliminar riscos de contaminação e poluição (WAN et al., 2015). A poliácridamida, por exemplo, é relacionada com elevada eficiência na coagulação-floculação, porém, a acrilamida, sub-produto desse polímero, tem efeitos cancerígenos e tem riscos de contaminação ambiental (RUDÉN, 2004).

Por essa razão, os coagulantes verdes podem ser opção de tecnologia viável para aplicação em coagulação-floculação de microalgas, devido à biodegradabilidade e não apresentarem riscos de toxicidade (OLADOJA, 2015).

2.3.1 Coagulantes verdes

Os coagulantes verdes são compostos orgânicos, também conhecidos como polieletrólitos, considerados recursos renováveis e degradáveis, não apresentando riscos à saúde e ao ambiente (ENAMALA et al., 2018; SALEEM; BACHMANN, 2019). Segundo Saleem e Bachmann (2019), esses coagulantes são solúveis em água e podem ter características aniônicas, catiônicas, poli-iônicas ou até mesmo não iônica, a depender da natureza de cada material com potencial coagulante, o qual pode ser derivado de diversas partes das plantas e também de partes de alguns animais, como crustáceos.

Saleem e Bachmann (2019) explicam que desde meados de 1970, quando começaram as publicações com coagulantes naturais para tratamento de água, o interesse no assunto aumentou ao longo dos anos, sendo que o Brasil é um dos países que mais publica na área. Embora o assunto seja discutido há mais de 40 anos, a aplicação comercial é escassa, principalmente devido a altas doses, valor agregado para purificação dos extratos a fim de melhorar o potencial coagulante e falta de interesse de investidores no financiamento desses produtos (CHOY et al., 2018; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019).

Os compostos presentes nesses coagulantes e que promovem a desestabilização da suspensão são descritos como polissacarídeos, aminopolissacarídeos, substâncias polifenólicas, proteínas, enzimas e glicoproteínas. Polieletrólitos naturais ricos em taninos, por exemplo, são potenciais coagulantes naturais, pois possuem grupo amina em sua composição (FUAD et al. 2018; SALEEM; BACHMANN 2019). Ainda segundo Fuad et al. (2018), o Aflok é um exemplo de tanino extraído da *Acacia mearnsii* comercializado e que pode ser utilizado para recuperar biomassa de microalgas. Deve-se destacar que muitas vezes, o processo de extração e purificação destas substâncias naturais, como os taninos, envolve o emprego de agentes químicos que podem deixar resíduos, levando a questionamentos quanto à natureza final desses compostos.

Algumas plantas como *Moringa oleifera*, cactos, amidos de diversos vegetais e substância extraída da carapaça de crustáceos (quitosana) são extensamente estudadas, além de outras plantas e materiais também serem pesquisados. A seguir, serão descritos os coagulantes naturais mais citados na literatura para recuperação de microalgas.

Moringa oleifera

A *Moringa oleifera* é uma árvore encontrada em países de clima tropical, cujas folhas, sementes e flores podem ser usadas em alimentação, fins medicinais e como coagulante para tratamento de água (TEIXEIRA; KIRSTEN; TEIXEIRA, 2012). As sementes dessas árvores são ricas em proteínas, que podem atuar como polieletrólitos catiônicos e a vantagem do uso dessa espécie em recuperação de microalgas é a obtenção de biomassa sem traços de contaminante e baixo custo (BARRADO-MORENO; BELTRAN-HEREDIA; MARTIN-GALLARDO, 2016).

A eficiência da *M. oleifera* é amplamente reportada na literatura. Hamid et al. (2016) encontraram que o aumento da dose de 10 a 50 mg L⁻¹ reduz o potencial zeta das microalgas, demonstrando que ocorre o mecanismo de neutralização de cargas. Segundo esses autores, ocorre a agregação das células das microalgas que formam flocos grandes e favorecem a sedimentação. Já Teixeira, Kirsten, e Teixeira (2012) relatam que a dose de 1.000 mg L⁻¹ em pH 9,2 foi necessária para atingir 89% de eficiência. Mais dados de eficiência podem ser visualizados na Tabela 2.1.

Hauwa et al. (2017) destacam que *M. oleifera* contém cerca de 1% de polieletrólitos ativos carregados positivamente. Esses autores encontraram boa remoção de microalgas estudando os efeitos do pH, tempo de sedimentação e dose do extrato de moringa por superfície de resposta.

Barrado-Moreno; Beltran-Heredia; Martin-Gallardo (2016) demonstram que a concentração inicial da microalga também afeta a eficiência da floculação. Os resultados encontrados permitiram concluir que maior concentração de células leva a aumento do percentual de remoção. Outra variável bastante relatada devido à influência na coagulação-floculação é o pH, pois, desempenha importante papel na protonação dos compostos. No entanto, Barrado-Moreno, Beltran-Heredia, e Martin-Gallardo (2016) não encontraram diferença significativa na mudança de pH de 5 para 9. Já Ali, Mustafa, e Saleem (2018) encontraram diferenças no pH, apontando o valor de pH 6 como o melhor para seu estudo. É importante ressaltar que os meios

de cultivo e tipo de alga afetam a eficiência, explicando assim, a variação do melhor pH para cada pesquisa.

Outro aspecto importante foi relatado por Behera e Balasubramanian (2019). Os autores destacam a influência de extrato salino de *M. oleifera*, visto que na presença de sal (NaCl) os compostos ativos são extraídos e ficam mais disponíveis para a coagulação-floculação. Assim, a interação dos compostos ativos e extrato salino com os compostos das microalgas levam a neutralização de cargas, formação de pontes, além do aumento da concentração de íons influenciar na compressão da dupla camada que resulta na floculação das microalgas.

Quitosana

A quitosana é um biopolímero não tóxico, não corrosivo e seguro para se manusear (AHMAD et al., 2011). Possui alta carga catiônica e cadeia polimérica que leva à ligação de agregados e a subsequente precipitação (RENAULT et al., 2009). Ainda segundo esses autores, a quitosana é elencada como o segundo biopolímero mais abundante do mundo, depois da celulose, e as principais fontes são crustáceos, como camarões e caranguejos. No Brasil, esse composto pode ser obtido dos resíduos do processamento desses animais, apresentando-se como fonte de renda incremental às famílias de pescadores (PRADO et al., 2004).

Apesar da abundância do polímero, faz-se necessária a otimização das conduções de coagulação, a fim de reduzir os custos do processo (GUPTA et al., 2018; RASHID; REHMAN; HAN, 2013). Apesar da quitosana ser um coagulante natural, o processo de extração desse composto a partir da quitina aliado à produção de microalgas em larga escala em sistema integrado de cultivo e à recuperação de biomassa tem-se o incremento dos custos do processo, o que pode o tornar inviável economicamente (HAMID et al., 2016).

A quitosana deve ser preparada em meio ácido para solubilizar os compostos, normalmente pela adição de ácido acético ou HCl, o que justifica os baixos valores de pH ao final dos ensaios (GERCHMAN et al., 2017; RASHID; REHMAN; HAN, 2013a; YUNOS et al., 2017). Chen et al. (2013) observaram redução de pH do meio de cultura de 10 para 7 devido à característica ácida da quitosana utilizando-se dose de 0,08 g L⁻¹.

Apesar dos problemas relatados, estudos diversos são realizados demonstrando a eficiência da quitosana, representando o maior número de

publicações com coagulantes naturais para recuperação de biomassa microalgal, como listado e detalhado na Tabela 2.1. O mecanismo de ação mais citado para esse composto é a neutralização de carga, pois, por meio da adição de contra-íons, a quitosana ao ser adsorvida pelas partículas negativas, neutraliza as cargas, permitindo a floculação (NAYAK et al., 2019). Segundo esses autores, a formação de pontes também pode ser identificada. Nesse mecanismo, a quitosana primeiramente neutraliza as cargas das microalgas e gera saldo de cargas positivas no núcleo, que funciona como agente quelante. Nesse processo a dose de quitosana é menor do que um mecanismo que ocorre somente com a neutralização de cargas. Isso explica as diferentes doses ótimas que são encontradas na literatura, pois o processo de coagulação e floculação depende da interação do coagulante com o tipo de suspensão (LAM et al., 2014).

Além disso, o aumento da dose pode elevar a eficiência da coagulação até um limite em que ocorre a reversão de cargas e também se verifica que a quitosana perde sua propriedade coagulante em pH básico e altas concentrações de coagulante (GERCHMAN et al., 2017; YUNOS et al., 2017).

Tabela 2.1 - Coagulantes verdes mais relatados na literatura nos últimos cinco anos para recuperação de diferentes espécies de microalgas

Coagulantes verdes <i>Nome científico</i> (nome popular)	Parte vegetal utilizada	Espécie de microalga	Concentração inicial ^a	pH	Dose de coagulante (g L ⁻¹)	Eficiência de recuperação (%)	Referência
<i>Jatropha curcas</i> (pinhão manso)	sementes			6,0	0,1	85	
<i>Conocarpus erectus</i> (mangue de botão)	sementes	Microalgas de água residuária doméstica	402 UNT	7,0	0,05	93	(ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018)
<i>Azadirachta indica</i> (nim)	sementes			9,0	0,2	98	
<i>Moringa oleifera</i>	sementes			6,0	0,05	80	
<i>Azadirachta indica</i> (nim)	folhas				24,0	52	
<i>Ficus indica</i> (figueira da Índia)	palma	Consórcio <i>Chlorella</i> sp,			12,0	60	
<i>Moringa oleifera</i>	semente	<i>Scenedesmus</i> sp.	0,5 g L ⁻¹	7,5 -7,8	8,0	76	(BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019)
<i>Citrus sinensis</i> (laranja)		<i>Cyneocystis</i> sp e			18,0	47	
<i>Punica granatum</i> (romã)	cascas	<i>Spirulina</i> sp.			18,0	50	
<i>Musa acuminata</i> (banana)	cascas				18,0	48	
<i>Moringa oleifera</i>	sementes	<i>Chlorella</i> , <i>Microcystis</i> , <i>Oocystis</i> e <i>Scenedesmus</i> sp.	75 µg L ⁻¹	7,0	0,018	80~90	(BARRADO-MORENO; BELTRAN-HEREDIA; MARTIN-GALLARDO, 2016)
Quitosana	-	<i>Scenedesmus</i> sp.	0,54 g L ⁻¹	9,0	0,08	90	(CHEN et al. 2013)
Quitosana	-	<i>Chlorella vulgaris</i>	0,30 g L ⁻¹	7-8,0	0,01	90	(GERCHMAN et al., 2017)
Quitosana	-	<i>Scenedesmus</i> sp.	91,36 mg L ⁻¹	7,0	0,08	80	(GUPTA et al., 2014)

Continua

Tabela 2.1 - Coagulantes verdes mais relatados na literatura nos últimos cinco anos para recuperação de diferentes espécies de microalgas (continuação)

Coagulantes verdes Nome científico (nome popular)	Parte vegetal utilizada	Espécie de microalga	Concentração inicial ^a	pH	Dose de coagulante (g L ⁻¹)	Eficiência de recuperação (%)	Referência
<i>Acacia mearnsii</i> (acacia-negra) “Ecotan”	cascas	Consórcio <i>Monoraphidium</i>	-	7,7	0,01	>90	(GUTIÉRREZ et al., 2015)
<i>Acacia mearnsii</i> (acacia-negra)		<i>Scenedesmus</i>					
“Tanfloc”		<i>Stigeoclorium</i>		7,7	0,05	>90	
<i>Moringa oleifera</i>	sementes	<i>Chlorella</i> sp.	-	6,5 – 7,5	0,01	>97	(HAMID et al. 2016)
<i>Moringa oleifera</i> <i>Strychnos potatorum</i> (clareira-noz)	sementes	<i>Botryococcus</i> sp.	-	7,5 7,5	0,35 0,35	>80 41	(HAUWA et al., 2017)
<i>Vigna radiata</i> (feijão)	grão	<i>Nannochloropsis</i> sp.	11.86 × 10 ⁶ células mL ⁻¹	2,0	20 mL L ⁻¹	>90	(KANDASAMY; SHALEH, 2017)
Quitosana	-	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	-	7,0	0,04	>90	(LAM et al., 2014)
Quitosana	-	<i>Chlorella</i> sp.	2,62 g L ⁻¹	8,0	0,01	98	(NAYAK et al., 2019)
Casca de ovo		<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	3,38 g L ⁻¹	4,0	0,1	99	(PANDEY et al., 2019)
Quitosana	-	<i>Chlorella vulgaris</i>	1,0 g L ⁻¹	6,0	0,12	92	(RASHID; REHMAN; HAN, 2013b)
<i>Opuntia ficus</i> (cacto)	palma	<i>Chlorella</i> sp.	740 UNT	natural	-	0	(UDOM et al., 2013)
<i>Moringa oleifera</i>	semente		20 UNT		4,67	85	
Quitosana	-	<i>Chlorella sorokiniana</i>	2,0 g L ⁻¹	6,0	0,02	99	(XU; PURTON; BAGANZ, 2013)
Quitosana	-	<i>Chlorella</i> sp.	60 UNT	7,4 – 7,8	0,03	98	(YUNOS et al., 2017)

^a: Concentração inicial de microalgas.

Outros coagulantes verdes

Os coagulantes verdes mais citados na literatura são quitosana e *Moringa oleifera*, como visto na Tabela 2.1. Outros materiais estudados são sementes de *Azadirachta indica* (nim), *Jatropha curcas* (pinhão manso), *Conocarpus erectus* (mangue de botão), *Strychnos potatorum* (clareira-noz), *Ficus indica* (figueira da Índia) (ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018; BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; HAUWA et al., 2017).

Behera e Balasubramanian (2019) estudaram diversos coagulantes naturais (Tabela 2.1) e encontraram diferenças no desempenho dos mesmos. Esses autores destacam que as diferenças de densidade de carga e compostos ativos são os responsáveis pelos mecanismos de ponte e estabilização da suspensão. Os melhores resultados foram com *M. oleifera* e *F. indica*. Nesse estudo, o aumento da concentração de microalgas necessitou menor dose para a floculação máxima, principalmente devido aos mecanismos de ponte.

Diferentes resultados de recuperação de biomassa utilizando-se *Azadirachta indica* foram encontrados por Ali, Mustafa, Saleem (2018) e por Behera e Balasubramanian (2019), os primeiros, obtiveram eficiência maior para esse material do que *M. oleifera*, enquanto que, os segundos, obtiveram menores desempenhos de separação. Isso demonstra a necessidade de se estudar e entender o mecanismo desse potencial coagulante, bem como otimizar as condições de coagulação-floculação.

Os estudos de Kandasamy e Shaleh (2017) e Pandey et al. (2019) com *Vigna radiata* (feijão mungu) e casca de ovo são inéditos para a recuperação de microalga. De acordo com os autores, eficiências superiores a 90% demonstram o potencial desses produtos e a necessidade de buscar novos coagulantes mais viáveis e de menor custo. Para *V. radiata*, a redução do potencial zeta demonstra que há neutralização de cargas e a formação de flocos resistentes demonstra a formação de pontes. Comportamento semelhante foi observado para as cascas de ovo, além de diferentes pH resultarem em mudanças no potencial zeta, consequentemente, na eficiência da floculação.

Outro comportamento importante a ser ressaltado é que o *S. potatorum*, rico em carboidratos e alcaloides, esteve associado à baixa eficiência de recuperação de microalgas, o que foi associado à concentração de compostos na

água residuária que adsorvem mais rapidamente na superfície do extrato do que a microalga *Botryococcus* sp. (HAUWA et al., 2017).

2.4 CONCLUSÃO

É possível encontrar na natureza diversos materiais com propriedades coagulantes, dentre eles, sementes, folhas, resíduos de animais, entre outros. A busca por coagulante eficiente, sustentável e de menor custo cresceu nas últimas décadas. No entanto, ainda são poucos os estudos que testam a aplicação dessas substâncias para recuperação de microalgas, que é promissora principalmente na produção de biocombustíveis.

As pesquisas se concentram no uso de *Moringa oleífera* e quitosana, a qual é relatada como fator que eleva custos quando aplicada em ensaios de coagulação e floculação. É necessário ampliar os estudos à cerca de coagulantes verdes a fim de se conhecer o maior número de materiais com propriedades coagulantes e se otimizar as condições de aplicação a diferentes espécies de microalga e meio de cultivo. Além disso, a padronização do cultivo de microalgas em diferentes estudos é forma de se controlar a variação das condições como dose e pH dos coagulantes verdes.

2.5 REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. **Chemical Engineering Journal**, v. 173, p. 879–882, 2011.
- ALI, M.; MUSTAFA, A.; SALEEM, M. Comparative Study between Indigenous Natural Coagulants and Alum for Microalgae Harvesting. **Arabian Journal for Science and Engineering**, 2018.
- BARRADO-MORENO, M. M. .; BELTRAN-HEREDIA, J. .; MARTIN-GALLARDO, J. Microalgae removal with *Moringa oleifera*. **Toxicon**, v. 110, p. 68–73, 2016.
- BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extract as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 45–52, 2019.
- BOLTO, B.; GREGORY, J. Organic polyelectrolytes in water treatment. **Water Research**, v. 41, p. 2301–2324, 2007.
- CHEN, L. et al. Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus* sp. cultivated in an open-pond system. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 9–15, 2013.
- CHOY, S. Y. et al. Separation of *Chlorella* biomass from culture medium by flocculation with rice starch. **Algal Research**, v. 30, n. February, p. 162–172, 2018.
- DELRUE, F. et al. Using coagulation-flocculation to harvest *Chlamydomonas reinhardtii*: Coagulant and flocculant efficiencies, and reuse of the liquid phase as growth medium. **Algal Research**, v. 9, p. 283–290, 2015.
- ENAMALA, M. K. et al. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation , harvesting , lipid extraction , and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, n. May 2017, p. 49–68, 2018.
- FUAD, NURAFIFAH; OMAR, R.; KAMARUDIN, SURYANI; HARUN, RAZIF; IDRIS, A.; AZLINA, W. A. K. G. W. Effective use of tannin based natural biopolymer , AFlok-BP1 to harvest. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. February, p. 4318–4328, 2018.
- GERCHMAN, Y. et al. Effective harvesting of microalgae : Comparison of different polymeric flocculants. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 141–146, 2017.
- GODOS, I. DE et al. Coagulation/flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 923–927, 2011.
- GUPTA, S. K. et al. Design and development of polyamine polymer for harvesting microalgae for biofuels production. **Energy Conversion and Management**, v. 85, p. 537–544, 2014.

GUPTA, K. S. et al. Wastewater to biofuels: Comprehensive evaluation of various flocculants on biochemical composition and yield of microalgae. **Ecological Engineering**, v. 117, n. February, p. 62–68, 2018.

GUTIÉRREZ, R. et al. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. **Algal Research**, v. 9, p. 204–211, 2015.

HAMID, S. H. A. et al. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio- flocculation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 310–317, 2016.

HAUWA, A. et al. Harvesting of *Botryococcus sp.* biomass from greywater by natural coagulants. **Waste and Biomass Valorization**, v. 0, n. 0, p. 0, 2017.

HOM-DIAZ, A. et al. Performance of a microalgal photobioreactor treating toilet wastewater: Pharmaceutically active compound removal and biomass harvesting. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 1–11, 2017.

KANDASAMY, G.; SHALEH, S. R. M. Harvesting of the microalga *Nannochloropsis sp.* by bioflocculation with mung bean protein extract. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 182, n. 2, p. 586–597, 2017.

LAM, G. P. et al. Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 804–807, 2014.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 4, p. 103221, 2019.

NAYAK, M. et al. Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella sp.* HS2 and their impact on water reusability. **Renewable Energy**, v. 136, p. 819–827, 2019.

OLADOJA, N. A. Headway on natural polymeric coagulants in water and wastewater treatment operations. **Journal of Water Process Engineering**, v. 6, p. 174–192, 2015.

PANDEY, A. et al. Experimental studies on zeta potential of flocculants for harvesting of algae. **Journal of Environmental Management**, v. 231, n. February 2018, p. 562–569, 2019.

PRADO, A. G. S. et al. Comparative adsorption studies of indigo carmine dye on chitin and chitosan. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, n. 1, p. 43–47, 2004.

RASHID, N.; REHMAN, S. U.; HAN, J.-I. Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. **Process Biochemistry**, v. 48, p. 1107–1110, 2013.

RENAULT, F. et al. Chitosan for coagulation/flocculation processes - An eco-friendly

approach. **European Polymer Journal**, v. 45, n. 5, p. 1337–1348, 2009.

RUDÉN, C. Acrylamide and cancer risk — expert risk assessments and the public debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 335–349, 2004.

SALEEM, M.; BACHMANN, R. T. A contemporary review on plant-based coagulants for applications in water treatment. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 72, p. 281–297, 2019.

TEIXEIRA, C. M. L. L.; KIRSTEN, F. V.; TEIXEIRA, P. C. N. Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p. 557–563, 2012.

UDOM, I. et al. Bioresource Technology Harvesting microalgae grown on wastewater. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 101–106, 2013.

VANDAMME, D. et al. Flocculation of microalgae using cationic starch. **Journal of Applied Phycology**, v. 22, n. 4, p. 525–530, 2010.

VANDAMME, D. **Flocculation based harvesting processes for microalgae biomass production**. 2013. Tese (Doctor in Bioscience Engineering) - Faculty of Bioscience Engineering, Kortrijk, Belgium, 2013.

WAN, C. et al. Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 251–257, 2015.

XU, Y.; PURTON, S.; BAGANZ, F. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 296–301, 2013.

YUNOS, F. H. M. et al. Harvesting of microalgae (*Chlorella sp.*) from aquaculture bioflocs using an environmental-friendly chitosan-based bio-coagulant. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 243–249, 2017.

3 ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO: Otimização simultânea de pH e dose dos coagulantes poliacrilamida e quitosana na recuperação de *Scenedesmus* sp.

3.1 INTRODUÇÃO

A coagulação-floculação é uma técnica considerada simples, de baixo consumo de energia, confiável e aplicável à remoção de turbidez, cor, patógenos compostos orgânicos, óleos, gorduras e microalgas (AHMAD et al., 2011; CHOY et al., 2014; OLADOJA, 2015). Esse processo consiste na adição de produtos que, por meio de mecanismos específicos, atuam na desestabilização de cargas superficiais e subsequente formação de flocos, que podem ser separados por diferença de densidade (ABOMOHRA et al., 2018; GODOS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2018)

Devido à simplicidade da coagulação-floculação, essa técnica é empregada para recuperação ou colheita de biomassa de microalgas (HAMID et al., 2016; LANANAN et al., 2016; YUNOS et al., 2017). O interesse comercial nas microalgas se deve ao acúmulo de lipídeos, proteínas e carboidratos que podem ser designadas à produção de biocombustível, ração animal, alimentos, cosméticos e fármacos (ENAMALA et al., 2018; SLADE; BAUEN, 2013). As células das microalgas são partículas coloidais da ordem de 3 a 50 μm , carregadas negativamente e, que devido à repulsão de suas cargas, permanecem estáveis no meio (LANANAN et al., 2016; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019; PUGAZHENDHI et al., 2019). Dessa forma, a coagulação-floculação pode ser realizada por meio da adição de produtos, como polímeros catiônicos que minimizam ou neutralizam as cargas superficiais dessas células, induzindo a sua agregação e consequente formação de flocos, os quais podem ser separados fisicamente (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019).

Os coagulantes comumente utilizados nesses processos, devido à eficiência, são os polímeros catiônicos sintéticos e naturais (ROSELET et al., 2015). Entretanto, as dificuldades relacionadas à sua aplicação, no caso dos polímeros sintéticos, se devem à contaminação ambiental e da biomassa devido aos subprodutos intermediários não biodegradáveis que são gerados, além de perigo à saúde humana, como riscos neurotóxicos e carcinogênicos (RUDÉN, 2004).

A quitina é um biopolímero natural abundante na natureza, superado somente pela celulose, encontrada em carapaça de crustáceos, como camarão e caranguejo (OLADOJA, 2015). Segundo esse autor, a quitosana, obtida da desacetilação da quitina, possui propriedades particulares, como presença de

grupos primários de amina, que são responsáveis pelas propriedades coagulantes desse material. Apesar das características ambientalmente favoráveis desse produto, o custo de aquisição é o empecilho na aplicação da quitosana na coagulação-floculação (GRANADOS et al., 2012; GUPTA et al., 2014). Por conseguinte, estudos de otimização desses coagulantes são realizados a fim de se estudar as condições que promovam a maior recuperação de biomassa de microalgas com menor dose e custo agregado.

Uma vez que a variação da coagulação-floculação depende da interação das características de cada espécie de microalga, pH do meio e coagulante; não existem informações suficientes dos efeitos dos coagulantes na recuperação de biomassa de microalgas, visto que diferentes doses e pH são relatados na literatura para coagulação-floculação de microalgas (GUPTA et al., 2018). Musa et al. (2019) relatam dose ótima de polímero sintético de poliácridamida de 10 mg L⁻¹ em pH 6,5 para recuperação de *Chlorella* sp. Por sua vez, Nayak et al. (2018) sugerem dose ótima de 10 mg L⁻¹ de quitosana e pH 8 para recuperação dessa mesma espécie. Já Gupta et al. (2018) descrevem eficiências acima de 90% para recuperação de *Scenedesmus* sp. utilizando-se 100 mg L⁻¹ de quitosana em pH 7 e 10 mg L⁻¹ de polímero catiônico sintético em pH 10.

Assim, observa-se que a variação desses parâmetros reforça que as condições de cultivo como, espécie, concentração de células, força iônica, pH do meio, carga superficial, fase de crescimento, composição e concentração do meio de cultivo influenciam na interação do coagulante com a microalga e consequentemente, interfere na eficiência de recuperação de biomassa (UDOM et al., 2013). Além disso, a maioria dos estudos de coagulação-floculação de microalgas são com a espécie *Chlorella* sp., fazendo-se necessário otimizar condições para outras espécies como *Scenedesmus* sp..

Para otimizar as condições de coagulação-floculação, delineamentos estatísticos que descrevem o comportamento da resposta de interesse influenciada por diferentes variáveis são utilizados como ferramenta para auxiliar a determinação das melhores condições em um processo (BEZERRA et al., 2008).

Dessa forma, baseado nas propriedades químicas, potencial de aplicação e diferentes resultados reportados na literatura, foram escolhidos o polímero sintético poliácridamida e o polímero natural, quitosana, a fim de se avaliar a eficiência da separação da biomassa de *Scenedesmus* sp. cultivada em Viçosa (MG), por meio da

coagulação-floculação, em diferentes doses e pH do meio, analisando-se a adequação da resposta ao modelo gerado por meio do Delineamento Composto Central Rotacional.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Cultivo de microalgas

A espécie *Scenedesmus* sp. foi cultivada em sistema aberto do tipo *raceway*, que consiste, simplificada, em lagoa de baixa profundidade, que utiliza a luz solar para produção de biomassa (GUPTA et al., 2015). O cultivo foi realizado conforme Rocha et al. (2019), em meio de cultura L4-m, cujas proporções de fertilizantes encontram-se dispostas na Tabela 3.1, até o início da fase estacionária, aproximadamente 10 dias.

Tabela 3.1 - Proporções de fertilizantes do meio de cultivo L4-m

Fertilizantes	Concentração (mg L ⁻¹)
Ureia (45,0% N)	180,00
Cloreto de Potássio (54,1% K ₂ O)	173,90
Super Fosfato Simples (15,3% P ₂ O ₅)	114,30
Sulfato de Magnésio Heptahidratado (9,0% Mg)	71,00
Sulfato de Ferro Monohidratado (30,0% Fe)	13,30
Micronutrientes (grau analítico)	Concentração (mg L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,02
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,05

3.2.2 Obtenção e preparo dos coagulantes

Nos ensaios de coagulação-floculação foram utilizados o polímero sintético à base de poliacrilamida e pó de quitosana (Sigma-Aldrich), este obtido de cascas de camarão. Ambas as soluções padrão de coagulantes foram preparadas em maiores concentrações para evitar diluição da suspensão de microalgas (GUPTA et al., 2014).

Para preparo da solução de polímero sintético, o pó foi previamente seco em estufa a 105 °C por 24 h e 5 g do polímero foram dissolvidos a 60 °C em 300 mL de água destilada sob agitação constante. Após a total dissolução, completou-se o volume para 500 mL a fim de se obter solução estoque de 10.000 mg L⁻¹. Conforme

recomendado por BLEEKE; MILAS; WINCKELMANN (2015), a solução foi armazenada a 4°C por, no máximo, 15 dias. Por fim, a partir dessa solução, diluições correspondentes às doses entre 3,0 e 18,0 mg L⁻¹ foram utilizadas.

A solução padrão de quitosana foi preparada no dia dos ensaios para evitar degradação da mesma. Dissolveu-se, então, 100 mg de quitosana em 10 mL de solução de HCl (0,1 M) em constante agitação por 10 min, em seguida, a solução foi diluída em 100 mL de água deionizada para se obter solução estoque de quitosana de 1.000 mg L⁻¹ (YUNOS et al., 2017). A partir desta solução prepararam-se diferentes diluições, correspondentes às concentrações estudadas entre 5,0 e 20,0 mg L⁻¹. A alteração do volume final dos ensaios após a adição dos coagulantes foi considerada inexpressiva, o que também foi descrito por Gerchman et al. (2017).

3.2.3 Determinação da densidade óptica

A microalga *Scenedesmus* sp. foi cultivada até o período que corresponde ao final da fase logarítmica e início da fase estacionária. A observação dessa fase foi determinada por meio da análise de crescimento por aproximadamente 10 dias (CHEN et al., 2013; LETELIER-GORDO et al., 2014). A densidade óptica (DO), que é a absorbância da suspensão de microalgas, foi determinada em comprimento de onda de 750 nm para obtenção da curva de crescimento das células e da eficiência dos coagulantes. As leituras de DO foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific – Multiskan Go) antes e depois dos ensaios de coagulação-floculação (BLEEKE; MILAS; WINCKELMANN, 2015; GRIF et al., 2011; LAM et al., 2014). Dessa maneira, foi possível identificar e comparar a eficiência de remoção de biomassa para cada coagulante em estudo. A eficiência foi determinada conforme a Equação 3.1 (ROSELET et al., 2015).

$$ER (\%) = \frac{DO_i - DO_f}{DO_i} \times 100 \quad (\text{Equação 3.1})$$

Em que:

ER = eficiência de recuperação (%);

DO_i = densidade óptica (750 nm) inicial;

DO_f = densidade óptica (750 nm) final.

Ao final da curva de crescimento, foi determinada a concentração de biomassa seca (Equação 3.2), na forma de sólidos suspensos, por meio de método gravimétrico (APHA, 2017, OLIVEIRA et al., 2018).

$$CB_{seca} = \frac{Ms}{V} \quad (\text{Equação 3.2})$$

Em que:

CB_{seca} = concentração de biomassa seca (mg L^{-1});

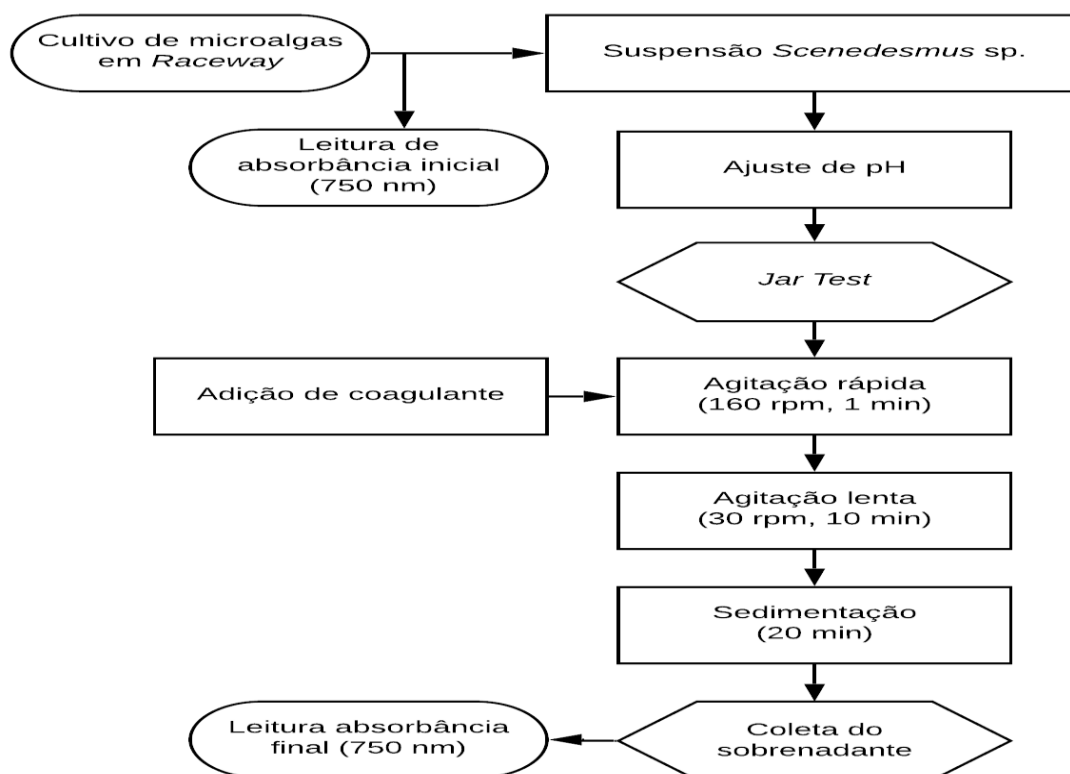
Ms = massa seca (mg);

V = volume de amostra (L).

3.2.4 Determinação da eficiência de coagulação-floculação

O *jar test* (teste do jarro), modelo AT700 (Alfa Tecnoquímica), foi usado a fim de otimizar o processo de coagulação-floculação. Um esquema do processo está disposto na Figura 3.1.

Figura 3.1 - Etapas de coagulação-floculação em *jar test*



Fonte: Do autor (2020).

Os béqueres foram preenchidos com 500 mL de suspensão de microalgas, filtradas previamente para remoção de células velhas e sujidades, resultando em absorbância inicial média de 0,055. Foram estudadas concomitantemente doses de coagulantes entre 3,0 e 18,0 mg L⁻¹ e 5,0 e 20,0 mg L⁻¹ de polímero sintético e quitosana, respectivamente, e pH entre 4 e 9. As faixas de valores foram escolhidas após testes preliminares e também baseando-se no estudo de Ahmad et al. (2011). O pH foi alterado em cada ensaio utilizando-se soluções de HCl (2M) e NaOH (2M).

Na fase de mistura rápida, a suspensão de microalgas foi agitada a 160 rpm durante 1 minuto. Em seguida, na mistura lenta, agitada a 30 rpm por 10 minutos conforme método adaptado de Lananan et al. (2016) e Oliveira et al. (2018). Esse procedimento foi seguido de sedimentação por 20 minutos, tempo também escolhido após testes prévios. Ao final dos ensaios, as amostras foram coletadas a 2 cm da superfície e submetidas às leituras de absorbância.

3.2.5 Análise do potencial zeta

Avaliou-se o potencial zeta dos coagulantes estudados e da suspensão de microalgas a fim de entender o mecanismo de ação dos coagulantes. As análises foram feitas no Laboratório de Embalagens do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, no aparelho Zetasizer Nano-ZS (Malvern).

3.2.6 Planejamento experimental

O delineamento composto central rotacional (DCCR) foi utilizado para otimizar a dosagem de coagulante e o pH na remoção de biomassa de microalgas, por meio de coagulação-floculação, sob o efeito de diferentes doses de coagulantes e faixa de pH variada. A escolha das variáveis foi feita após realização de testes preliminares, objetivando o menor número possível de ensaios, para que todas as corridas fossem efetuadas em mesmo dia, reduzindo-se a interferência do tempo.

O DCCR consistiu em um esquema fatorial 2² com mais quatro pontos axiais e seis pontos centrais, totalizando 14 corridas, realizadas de maneira aleatória. Os níveis altos e baixos foram escolhidos a partir dos resultados obtidos em ensaios preliminares.

Os níveis de dosagem de coagulante e de pH estudados são mostrados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Níveis codificados e reais das variáveis independentes no DCCR

Coagulante	Variáveis independentes	Níveis das variáveis independentes				
		- α	-1	0	+1	+ α
Polímero sintético	Dose (mg L ⁻¹)	3,00	5,19	10,50	15,80	18,00
	pH	4,00	4,73	6,50	8,27	9,00
Quitosana	Dose (mg L ⁻¹)	5,00	7,19	12,50	17,80	20,00
	pH	4,00	4,73	6,50	8,27	9,00

O efeito das variáveis dose de coagulante e pH foi avaliado por meio da análise de variância (ANOVA). Avaliou-se também a validade ou não de predição dos modelos gerados. Gráficos de contorno que mostram o comportamento da variável resposta em função da variação dos níveis das doses de coagulante e do pH foram gerados (HAUWA et al., 2017).

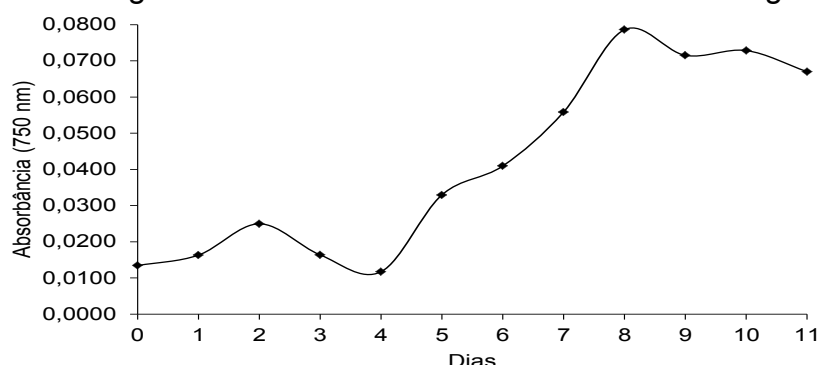
Para a análise dos dados foi utilizado o programa Minitab versão 2018. Os gráficos foram gerados utilizando-se o programa Statistica versão 2010.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Avaliação do crescimento das microalgas

No cultivo de microalgas, o momento entre o final da fase exponencial e o início da fase estacionária corresponde à redução da atividade metabólica associada à divisão celular e ao maior acúmulo de metabólitos de reserva nas células, com consequente acúmulo de compostos, como lipídeos neutros. Esse foi, portanto, o ponto de interesse para colheita das microalgas, pois, corresponde à fase de crescimento onde se agrega valor a esse produto (BARROS et al., 2015; REN et al., 2013). Por essa razão, optou-se, nesse estudo, por coletar as microalgas no início da fase estacionária, correspondendo ao nono dia, conforme ilustrado na Figura 3.2.

Figura 3.2 – Curva de crescimento das microalgas



Além disso, a concentração de biomassa de microalgas, que corresponde às células suspensas no meio, é determinante no processo de coagulação-floculação, visto que a interação dos coagulantes também depende da concentração de biomassa (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; CHEN et al., 2013). Kim et al. (2011) relatam em seus estudos com coagulante metálico que altas concentrações de biomassa, na ordem de 2.000 mg L^{-1} , podem tornar a coagulação-floculação ineficiente, uma vez que os coagulantes perdem sua ação. Nesse estudo, a concentração de biomassa foi de aproximadamente 100 mg L^{-1} , calculado conforme a Equação 3.2. Dessa forma, o emprego dos polímeros sintético e de quitosana foram otimizadas para essa concentração de biomassa.

3.3.2 Eficiência dos coagulantes

Estudos com polímeros sintéticos de poliacrilamida e polímeros naturais à base de quitosana demonstram o potencial desses coagulantes na colheita de biomassa de diferentes espécies de microalgas (MUSA et al., 2020; NAYAK et al., 2019; ROSELET et al., 2015; YUNOS et al., 2017). No presente estudo houve remoções acima de 90% e de 75% (Tabela 3.3) usando poliacrilamida e quitosana, respectivamente. A variável indicativa foi a densidade óptica do sobrenadante, analisada em espectrofotômetro no comprimento de onda 750 nm (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 – Eficiências encontradas na coagulação floculação de *Scenedesmus* sp. utilizando-se polímero sintético poliácridamida e polímero natural quitosana

Ensaio	Polímero sintético			Quitosana		
	Dose (mg L ⁻¹)	pH	Eficiência remoção (%)	Dose (mg L ⁻¹)	pH	Eficiência remoção (%)
1	5,19	4,73	100,0	7,19	4,73	57,8
2	15,80	4,73	99,3	17,80	4,73	39,2
3	5,19	8,26	96,1	7,19	8,26	51,7
4	15,80	8,26	99,2	17,80	8,26	75,3
5	3,00	6,50	39,5	5,00	6,50	73,1
6	18,00	6,50	98,8	20,00	6,50	48,5
7	10,50	4,00	99,3	12,50	4,00	27,1
8	10,50	9,00	99,4	12,50	9,00	29,5
9	10,50	6,50	99,5	12,50	6,50	46,7
10	10,50	6,50	99,3	12,50	6,50	33,2
11	10,50	6,50	99,8	12,50	6,50	22,4
12	10,50	6,50	100,0	12,50	6,50	24,7
13	10,50	6,50	99,6	12,50	6,50	54,4
14	10,50	6,50	100,0	12,50	6,50	41,9

A poliácridamida mostrou-se efetiva com dosagens acima de 5,19 mg L⁻¹. Observou-se também que para esse polímero, o pH não influenciou no desempenho do coagulante, uma vez que houve boas remoções de biomassa em toda a faixa de pH estudada. O pH natural da suspensão pode variar de 6 a 9 dependendo das condições de cultivo, como fase de desenvolvimento, alcalinidade e dióxido de carbono dissolvido no meio (MUSA et al., 2020; NGUYEN et al., 2019). Dessa forma, não é necessário ajuste de pH quando a poliácridamida é empregada para colheita de biomassa de *Scenedesmus* sp., o que também é relatado em por Musa et al. (2020) e Nguyen et al. (2019), visto que o pH natural desse cultivo foi de aproximadamente 6,5; estando dentro da faixa de atuação do coagulante.

Diferentes produtos comerciais de poliácridamida foram testados por Bleeke; Milas; Winckelmann, (2015) para separação de microalgas *Chlorella* sp, *Scenedesmus acuminatus* e *Chlamydomonas reinhardtii*. Concentrações de 1,5 a 4,0 mg L⁻¹, a depender da espécie de microalga, culminaram em eficiência de remoção de células maior que 90%. O alto peso molecular, devido às cadeias longas, e elevada carga catiônica desse tipo de polímero resultam em eficiências desejadas para diferentes condições de cultivo e diferentes espécies de microalgas (BLEEKE; MILAS; WINCKELMANN, 2015; MUSA et al., 2020; NGUYEN et al., 2019). Apesar das características da poliácridamida, Chen et al. (2013) obtiveram

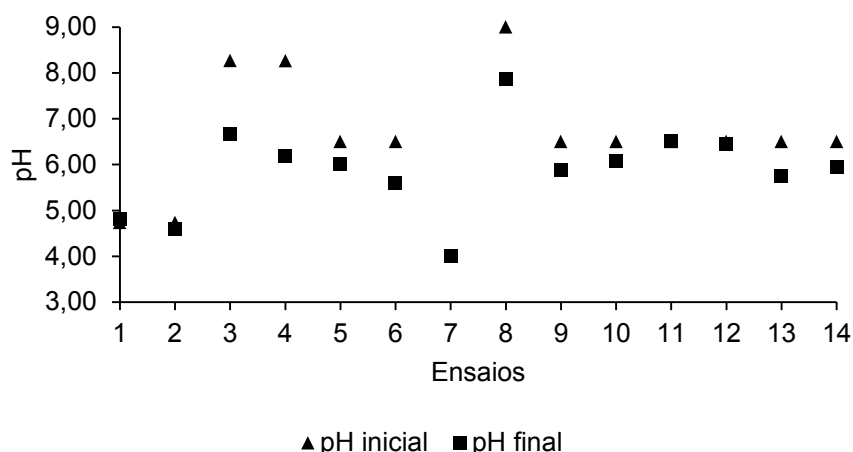
eficiências de colheita de *Scenedesmus* sp. de aproximadamente 20% utilizando dose de $0,05 \text{ g L}^{-1}$ na faixa de pH do meio entre 7,0 e 11,0. Esses autores relatam que as propriedades da solução de polímero e sua interação com as microalgas podem afetar o desempenho desse coagulante.

Em relação à quitosana, observou-se nesse estudo que dose mínima de 5 mg L^{-1} foi suficiente para atingir eficiência maior que 70% de remoção de densidade óptica em pH 6,5 (Tabela 3.4). Observou-se nesse experimento que a maior dose estudada (20 mg L^{-1}) resultou em eficiência de 48%, esse comportamento pode ocorrer devido a restabilização de cargas do sistema.

Além disso, a quitosana é mais eficiente na faixa de pH entre 6,0 e 8,0, pois, perde sua carga e habilidade de coagulação em meio mais alcalino (GERCHMAN et al., 2017). Gupta et al. (2014) encontraram eficiência maior que 70% de recuperação de *Scenedesmus* sp. em pH 7,0 e dose de 40 mg L^{-1} . A melhor dose reportada pelos autores foi superior à encontrada no presente estudo, mas ressalta-se que diferentes características do meio de cultivo e concentração de biomassa podem resultar em diferentes doses ótimas mesmo em pH semelhante.

Devido ao caráter ácido da solução padrão de quitosana (pH igual a 2,6) e quantidade de solução adicionadas nas cubas, houve redução de pH ao final de alguns ensaios, como pode ser visto na Figura 3.3. Esse mesmo comportamento foi relatado por Chen et al. (2013) que, usando a dose de 80 mg L^{-1} de quitosana, reportaram redução de pH de 10,0 para 7,0 e eficiência de colheita de 95%. Yunos et al. (2017) também relatam variações de pH empregando doses de 5 a 50 mg L^{-1} . Diferente do presente estudo, esses autores descrevem que, apesar da acidez da solução de quitosana, houve inexpressiva redução do pH do meio, ainda dentro da faixa estudada, de 7,0 a 8,0.

Figura 3.3 – Variação de pH ao início e final dos ensaios com quitosana



Embora a quitosana seja citada na literatura como eficiente coagulante natural para a recuperação de microalgas, é necessário observar que a eficiência e as doses usadas na mistura quitosana-microalga depende da espécie empregada, contaminações no cultivo e também das características da solução de quitosana, como grau de desacetilação, massa molar e pureza (GRANADOS et al., 2012; OLADOJA, 2015; YUNOS et al., 2017). Isso é observado na variação de resultados de dose ótima, entre 10 e 120 mg L⁻¹, além de meios com pH entre 6,0 e 8,0 discutidos na literatura (GUPTA et al., 2014; LAM et al., 2014; NAYAK et al., 2019; RASHID; REHMAN; HAN, 2013; XU; PURTON; BAGANZ, 2013; YUNOS et al., 2017). Além disso, resultados de eficiência menor que 20% usando quitosana para recuperar consórcio de microalgas de diferentes espécies também podem ser encontrados (GRANADOS et al., 2012).

Uma vez que as condições de coagulação-floculação, utilizando a quitosana, não podem ser generalizadas, a busca por condições de cultivo mais homogêneas, o entendimento acerca da interação das microalgas com os coagulantes deve ser aprofundado. Para o uso da quitosana com a finalidade de recuperação de biomassa de microalgas ainda se faz necessária a otimização para indicar melhor dose e pH que promovem a maior eficiência de colheita de biomassa do cultivo empregado (XU; PURTON; BAGANZ, 2013).

3.3.3 Análise do potencial zeta e mecanismos de coagulação

O potencial zeta mede o potencial elétrico das partículas em um líquido e é um indicador importante da estabilidade de dispersão coloidal (Hamid et al. 2014;

Zhang et al. 2018). Os mecanismos de coagulação dependem das características superficiais das células de microalgas e dos coagulantes usados (ENAMALA et al., 2018). Sabe-se que as microalgas possuem carga superficial negativa, principalmente relacionado à presença dos grupos funcionais carboxilas (-COOH), hidroxilas (-OH) e fosfatos (PO_4^{3-}) (GUPTA et al., 2018; NAYAK et al., 2019; PUGAZHENDHI et al., 2019). Sabendo disso, com a análise do potencial zeta é possível identificar os possíveis mecanismos de coagulação, pois, quanto maior a carga elétrica positiva do coagulante, maior a tendência da coagulação ocorrer por neutralização de cargas e mecanismo *patch*, já cargas negativas indicam que o mecanismo de formação de pontes pode ocorrer.

A espécie utilizada nesse estudo, possui carga aproximada de -4,44 a -11,83 mV, dependendo do pH (Tabela 3.4). Além disso, a carga mais negativa foi observada em pH mais próximo da neutralidade.

Tabela 3.4 – Potencial zeta dos coagulantes e microalga

Potencial zeta (mV)			
Padrão poliacrilamida (pH 3,5)	57,06		
Padrão quitosana (pH 2,6)	45,23		
	pH 4,0	pH 6,5	pH 9,0
Microalga (<i>Scenedesmus</i> sp.)	-4,44	-11,83	-11,23

A poliacrilamida e quitosana possuem carga catiônica, em pH 3,5 e 2,60 respectivamente (Tabela 3.4). Uma vez que as microalgas apresentam maior carga negativa em pH próximo à neutralidade, a eficiência dos polímeros catiônicos quando considerado o mecanismo de desestabilização de cargas é melhor nesse ponto pelo fato de se ter uma melhora na interação eletrostática entre as células das microalgas e o coagulante (CHEN et al., 2013). Além disso, a presença de grupos amina na quitosana em meio ácido aumenta a protonização dessas cadeias, tornando a quitosana mais catiônica e, portanto, mais atraída por ânions (AHMAD et al., 2011).

Os estudos de Dong; Chen; Liu, (2014) utilizando quitosana e poliacrilamida em meio com pH 5,0, 9,0 e 12,0 demonstraram que esses coagulantes tiveram melhor eficiência em meio com pH 5,0. Observou-se que no perfil do potencial zeta da solução de quitosana, os compostos são mais protonados em pH mais ácido. A partir do pH 8, a carga do potencial zeta da quitosana chega a

0 mV, assim, o polímero tem sua capacidade de coagulação-floculação reduzida, visto que as cargas positivas e negativas de sua superfície se anulam.

A diferença de cargas observada para os coagulantes catiônicos em estudo e a microalga (Tabela 3.4) indica que pode ocorrer neutralização de cargas das microalgas, pois íons de carga positiva são adsorvidos à superfície das células e levam à redução da repulsão eletrostática entre partículas (AHMAD et al., 2011; LOGANATHAN; SATHTHASIVAM; SARP, 2018). Porém, os mecanismos de coagulação-floculação de microalgas usando polímeros catiônicos ainda não são bem esclarecidos e sabe-se que podem ocorrer separadamente ou em conjunto (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019; PUGAZHENDHI et al., 2019).

Devido à característica catiônica desses polímeros, quitosana e poliacrilamida, supõe-se que a coagulação do sistema microalga-polímero envolve neutralização, mecanismo *patch* ou mosaico e formação de pontes (CHEN et al., 2013; DONG; CHEN; LIU, 2014; LAM et al., 2014; MUSA et al., 2020; NGUYEN et al., 2019).

A diferença de cargas entre coagulantes e microalgas (Tabela 3.4) e as características dos coagulantes usados nesse trabalho, como elevada massa molar, indica que os processos mencionados acima provavelmente são os responsáveis pela coagulação-floculação. Visto que, a neutralização ocorre quando o polímero possui carga oposta ao coloide, assim, o coagulante catiônico neutraliza as cargas superficiais das microalgas; a formação de pontes se dá quando polímeros de cadeia longa e mesma carga da suspensão adsorvem na superfície de várias partículas formando laços que se estendem na superfície das partículas e as ligam por meio de pontes formando agregados evidenciados pela formação de flocos grandes (BOLTO; GREGORY, 2007; BRATBY, 2016; RENAULT et al., 2009).

Já o mecanismo *patch* ou mosaico ocorre quando o coagulante tem alta densidade de cargas e interage com a superfície negativa das microalgas formando áreas carregadas com cargas positivas e negativas, assim, as partes das células adjacentes com cargas opostas são atraídas umas pelas outras, formando espécie de remendo ou mosaico (BRATBY, 2016; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019; VANDAMME; FOUBERT; MUYLEAERT, 2013).

Ahmad et al. (2011) explicam que a desestabilização de cargas da suspensão de microalgas quando se adiciona carga catiônica, como quitosana, ocorre devido às regiões positivas serem adsorvidas pelas regiões negativas das

células, assim, durante a agitação ocorre colisão entre essas partículas que são agregadas. Esses autores também destacam que ao adicionar concentração de cargas positivas maiores do que o necessário para desestabilizar as cargas negativas, pode ocorrer restabilização de cargas e a eficiência da coagulação-floculação reduz a formação de flocos.

Como o mecanismo de formação de pontes ocorre entre partículas e polímeros de mesma carga, elevada quantidade de carga catiônica pode primeiramente neutralizar as cargas da suspensão de microalgas e o saldo de cargas positivas nos núcleos funciona como agente quelante (BLEEKE; MILAS; WINCKELMANN, 2015; GUPTA et al., 2014; NAYAK et al., 2019). De acordo com esses autores, o mecanismo de formação de pontes requer menor dose que o mecanismo de neutralização, isso explica a variação de doses empregadas na literatura, uma vez que a interação microalga-polímero varia em cada condição. Uma vez que os mecanismos agem em conjunto e os polímeros e microalgas possuem características superficiais diversas, como diferentes grupos ativos, não é possível afirmar com certeza qual o mecanismo atuou majoritariamente no processo de coagulação-floculação, fazendo-se apenas uma especulação dos prováveis mecanismos responsáveis pela eficiência no processo.

3.3.4 Obtenção do modelo de predição e das superfícies de resposta

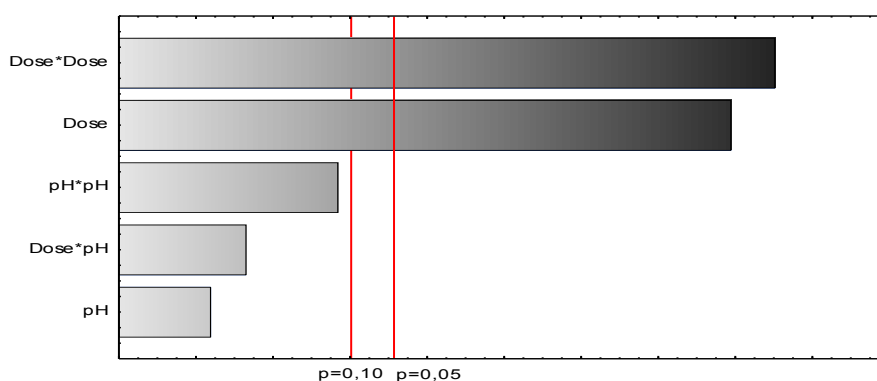
Como registrado anteriormente, observou-se na Tabela 3.3 que a maior remoção de células medida por densidade óptica para o polímero sintético ocorreu independentemente do pH estudado e que doses superiores a $5,19 \text{ mg L}^{-1}$ promovem maiores remoções de biomassa de microalgas. Em relação à quitosana, houve remoções na faixa de pH estudada (Tabela 3.3), e as remoções mais expressivas ocorreram na faixa de pH entre 6,0 e 8,0. Além disso, dose similar à empregada para o polímero sintético, promoveu eficiência maior que 70%.

As medidas de densidade óptica são apropriadas para cultivos em baixas concentrações, como é o caso desse estudo. Contudo, leituras efetuadas em 750 nm resultaram em baixa absorbância inicial (valores médios entre 0,05 e 0,06). As discrepâncias de resultados estão relacionadas à limitação de exatidão do processo de determinação de cultivos menos concentrados, conforme também reportado por Delrue et al., (2015).

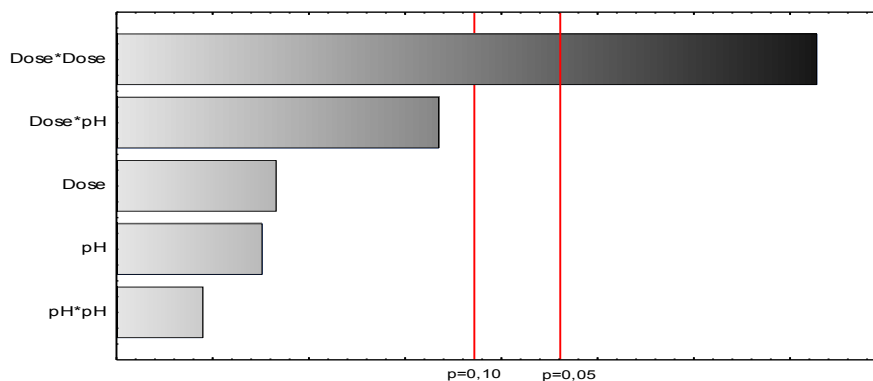
Na Figura 3.4, observa-se o gráfico de Pareto para as regressões estudadas de DO_{REMOV} (Densidade óptica removida) por polímero sintético e quitosana. As barras que ultrapassam as linhas verticais são significativas a 5 e 10% de probabilidade. Observa-se que a significância das variáveis foi diferente para cada modelo, assim, eliminaram-se as variáveis menos significativas, observando-se também a hierarquia das variáveis a fim de gerar modelos mais simples, mantendo-se boa capacidade preditiva.

Figura 3.4 – Efeito de Pareto para densidade óptica removida utilizando-se (a) polímero sintético poliácridamida e (b) quitosana, a nível de 5 e 10% de probabilidade

a)



b)



Pode-se comparar, nesses gráficos, a importância de cada fator estudado e suas interações na recuperação de microalgas. A remoção de densidade óptica utilizando-se o polímero sintético tem efeito significativo para dose. Observa-se na Figura 3.4(a) que o efeito do pH não é significativo na remoção de densidade óptica à níveis de 5 e 10% de significância estatística na faixa estudada. Embora o pH seja uma variável importante no processo de coagulação-floculação, a não significância estatística desse fator é explicada em razão do coagulante atuar de maneira eficiente em toda a faixa de pH estudada, não apresentando diferença nos

resultados de remoção de densidade óptica (considerando-se as condições iniciais de baixa densidade óptica). Nesse caso, pode-se afirmar que o processo de coagulação-floculação sem ajustes de pH para esse coagulante, promove redução de custos com reagentes, desde que o processo seja efetuado em valores de pH e aporte de microalgas dentro da faixa estudada neste trabalho (MUSA et al., 2020).

Sabe-se que o pH exerce função fundamental na coagulação-floculação com quitosana, pois, a mesma tem protonação dependente do pH (GUPTA et al., 2014). Mesmo que o pH não tenha apresentado significância nos testes (Figura 3.4b) optou-se pela sua manutenção nos modelos, devido a sua importância experimental.

As metodologias de superfície de resposta, como o DCCR, possuem vantagem de permitir inferências sobre experimentos com múltiplas variáveis e ajuste de modelos com número de corridas reduzido, e foram inicialmente aplicadas a métodos relacionados à cromatografia. No entanto, pesquisas com outras respostas podem ser desenvolvidas aplicando-se seus princípios (BEZERRA et al., 2008). Os testes com este tipo de metodologia devem ser feitos em condições muito controladas. No presente experimento, mesmo com o rigoroso controle laboratorial, os valores dos coeficientes que mostram o desempenho do modelo foram considerados pequenos.

Os modelos ajustados de segunda ordem que foram gerados para as respostas usando polímero sintético (R^2 igual a 65,25%) e quitosana (R^2 igual a 68,20%) são apresentados nas equações 3.3 e 3.4, respectivamente. Modelos podem ser considerados indicadores de tendência quando $R^2 < 0,60$ e para fins preditivos acima desse valor (BARROS NETO et al., 2007). Observou-se que as eficiências de poliacrilamida foram satisfatórias, a baixa densidade óptica inicial, provavelmente reduziu o poder de predição do modelo, e, como sugestão, faixas entre 3 e 5 mg L⁻¹ de poliacrilamida devem ser estudadas.

$$DO_{\text{REMOV/p.sintético}} = 0,0409 + 0,00578 * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} - 0,00568 * \text{pH} - 0,000226 * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} + 0,000446 \text{ pH} * \text{pH}$$

(Equação 3.3)

$$DO_{\text{REMOV/quitosana}} = 0,1442 - 0,01554 * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} - 0,00816 * \text{pH} + 0,000406 * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} + 0,000755 * \text{Dose (mg L}^{-1}\text{)} * \text{pH}$$

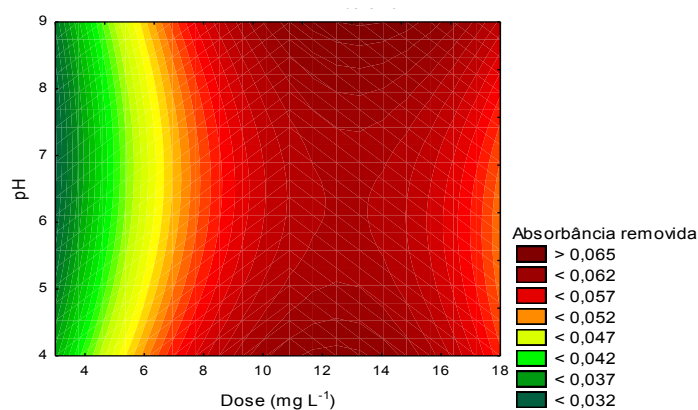
(Equação 3.4)

A dose ótima gerada pelo modelo para remoção de microalgas, calculada por meio do programa Minitab foi de 13,3 mg L⁻¹ e 5,0 mg L⁻¹ quando empregados o polímero sintético e a quitosana, respectivamente. Esses valores indicam a condição ideal para máxima recuperação de biomassa de microalgas. É importante observar que o efeito do pH não foi significativo em ambos os modelos e, embora seja uma variável relevante, nesse tipo de ensaio pode-se empregar o coagulante no pH natural da microalga, próximo a 6,5, visando eficiência e redução de custos com alteração de pH (MUSA et al., 2020).

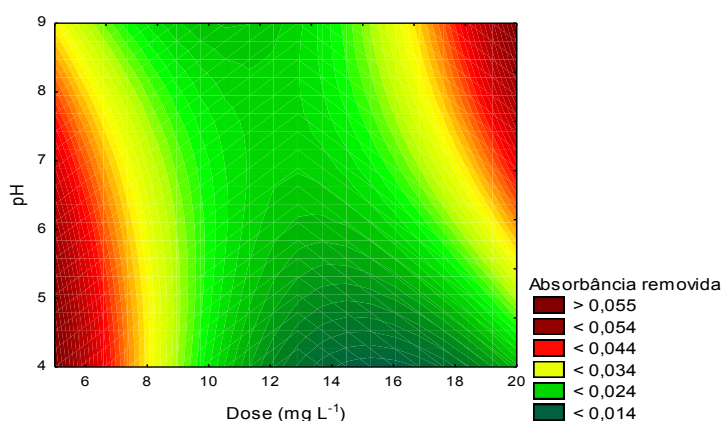
Os gráficos de contorno obtidos (Figura 3.5) apontam as regiões e condições de melhor eficiência. Na Figura 3.5a, percebe-se que o pH não influenciou de fato na eficiência de recuperação de microalgas e que as melhores doses estão entre 10 a 14 (mg L⁻¹). Em adição, na Figura 3.5b observa-se que há regiões ótimas em pontos de pH e dose extremos, dessa forma, do ponto de vista econômico, pode-se escolher o pH e a dose que proporcionem custos menos onerosos.

Figura 3.5 – Gráfico de contorno demonstrando o efeito do pH e da dose de (a) polímero sintético e (b) quitosana para remoção de microalgas

a)



b)



Nesse trabalho, houve confirmação da eficiência dos coagulantes estudados e indicações satisfatórias de otimização dos parâmetros estudados para a microalga *Scenedesmus* sp. A dose de quitosana indicada para as condições deste trabalho foi menor do que o relatado na literatura, tal fato pode ser atribuído à concentração da biomassa e tipo de quitosana utilizada.

Em relação à quitosana, de maneira preliminar, estimou-se, considerando-se as condições aqui estudadas, custo de R\$ 35 por quilograma de microalga extraída, utilizando-se quitosana processada e com grau de pureza maior. Apesar de onerosa, a quitosana pode apresentar viabilidade quando se constata que a produção de camarão, cujos resíduos são fonte de quitosana, é intensa na região do nordeste brasileiro e essa mesma região é o polo nacional de produção de microalgas. Assim, os custos poderiam ser reduzidos com a aquisição e uso do produto local (PRADO et al., 2004). A quitosana tem a vantagem de não apresentar riscos de contaminação do sobrenadante e efeitos tóxicos para o ambiente (WU et al., 2012). Embora o uso da quitosana implique em doses superiores à poliácridamida, essa é relacionada a riscos ambientais, contaminação da biomassa e potencial carcinogênico (RUDÉN, 2004).

3.4 CONCLUSÕES

O uso de coagulantes para recuperação de biomassa de *Scenedesmus* sp. é importante para obter processo rápido de recuperação de biomassa microalgal.

O uso de polímero sintético poliácridamida possui a vantagem de ser eficiente para diferentes condições de cultivo e espécies de microalgas, entretanto, efeitos deletérios à saúde e ambiente demandam a redução de seu uso e substituição por outros coagulantes menos prejudiciais.

A quitosana é eficiente para recuperação de *Scenedesmus* sp.. Porém, observa-se que tem maior seletividade de condições, especialmente com a faixa de pH, devido à protonação dos grupos ativos responsáveis pela coagulação. O uso da quitosana em escala real deve avaliar a viabilidade econômica, especialmente em regiões como o nordeste brasileiro, polo de produção de microalgas e crustáceos, que é fonte de obtenção de quitosana. Além disso, é importante explorar outros coagulantes naturais com eficiências de recuperação de biomassa em diferentes cultivos de microalgas, sejam sustentáveis e economicamente viáveis, a fim de reduzir o uso de coagulantes sintéticos e consequentemente, seus efeitos deletérios.

O uso DCCR na otimização da coagulação-floculação de microalgas é desafiador devido à natureza biológica desses organismos, além disso, a variável resposta, densidade óptica, possui valores muito baixos que podem influenciar na eficiência desse tipo de estatística multivariada.

3.5 REFERÊNCIAS

ABOMOHR, A. E. et al. Optimization of chemical flocculation of *Scenedesmus obliquus* grown on municipal wastewater for improved biodiesel recovery. **Renewable Energy**, v. 115, p. 880–886, 2018.

AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. **Chemical Engineering Journal**, v. 173, n. 3, p. 879–882, 2011.

AHMADI, R. et al. Optimization of Cr (VI) removal by sulfate-reducing bacteria using response surface methodology. **Desalination and Water Treatment**, n. May, p. 37–41, 2015.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FOUNDATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 23 ed. Washington: APHA, 2017

BARROS, A. I. . et al. Harvesting techniques applied to microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1489–1500, 2015.

BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3° ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007.

BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extract as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 45–52, 2019.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965–977, 2008.

BLEEKE, F.; MILAS, M.; WINCKELMANN, D. Optimization of freshwater microalgal biomass harvest using polymeric flocculants. p. 235–244, 2015.

BOLTO, B.; GREGORY, J. Organic polyelectrolytes in water treatment. **Water Research**, v. 41, p. 2301–2324, 2007.

BRATBY, J. **Coagulation and Flocculation in Water and Wastewater Treatment**. 3a. ed. Londres: IWA Publishing, 2016.

CHEN, L. et al. Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus* sp. cultivated in an open-pond system. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 9–15, 2013.

CHOY, S. Y. et al. Utilization of plant-based natural coagulants as future alternatives towards sustainable water clarification. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, p. 2178–2189, 2014.

DELRUE, F. et al. Using coagulation-flocculation to harvest *Chlamydomonas reinhardtii*: Coagulant and flocculant efficiencies, and reuse of the liquid phase as growth medium. **Algal Research**, v. 9, p. 283–290, 2015.

DONG, C.; CHEN, W.; LIU, C. Flocculation of algal cells by amphoteric chitosan-based flocculant. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 170, p. 239–247, 2014.

ENAMALA, M. K. et al. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation , harvesting , lipid extraction , and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, n. May 2017, p. 49–68, 2018.

GERCHMAN, Y. et al. Effective harvesting of microalgae: Comparison of different polymeric flocculants. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 141–146, 2017.

GODOS, I. DE et al. Coagulation/flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 923–927, 2011.

GRANADOS, M. R. et al. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 102–110, 2012.

GRIF, M. J. et al. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, p. 119–123, 2011.

GUPTA, S. K. et al. Design and development of polyamine polymer for harvesting microalgae for biofuels production. **Energy Conversion and Management**, v. 85, p. 537–544, 2014.

GUPTA, S. K. et al. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 875–885, 2015.

GUPTA, S. K. et al. Wastewater to biofuels: Comprehensive evaluation of various flocculants on biochemical composition and yield of microalgae. **Ecological Engineering**, v. 117, n. February, p. 62–68, 2018.

HAMID, S. H. A. et al. Harvesting microalgae, *Chlorella* sp. by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 95, p. 270–275, 2014.

HAMID, S. H. A. et al. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio- flocculation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 310–317, 2016.

HAUWA, A. et al. Harvesting of *Botryococcus* sp. Biomass from Greywater by Natural Coagulants. **Waste and Biomass Valorization**, 2017.

KIM, D. G. et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3163–3168, 2011.

LAM, G. P. et al. Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 804–807, 2014.

LANANAN, F. et al. Optimization of biomass harvesting of microalgae, *Chlorella sp.* utilizing auto-flocculating microalgae, *Ankistrodesmus sp.* as bio-flocculant. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 391–396, 2016.

LETELIER-GORDO, C. O. et al. Effective harvesting of the microalgae *Chlorella protothecoides* via bioflocculation with cationic starch. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 167, p. 214–218, 2014.

LOGANATHAN, K.; SATHTHASIVAM, J.; SARP, S. Removal of microalgae from seawater using chitosan-alum/ferric chloride dual coagulations. **Desalination**, v. 433, n. November 2017, p. 25–32, 2018.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 4, p. 103221, 2019.

MUSA, M. et al. Cationic polyacrylamide induced flocculation and turbulent dewatering of microalgae on a Britt Dynamic Drainage Jar. **Separation and Purification Technology**, v. 233, p. 116004, 2020.

NAJIB, T. et al. Optimization of sulfate removal by sulfate reducing bacteria using response surface methodology and heavy metal removal in a sulfidogenic UASB reactor. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 4, p. 3256–3265, 2017.

NAYAK, M. et al. Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella sp.* HS2 and their impact on water reusability. **Renewable Energy**, v. 136, p. 819–827, 2019.

NGUYEN, L. N. et al. Validation of a cationic polyacrylamide flocculant for the harvesting fresh and seawater microalgal biomass. **Environmental Technology & Innovation**, v. 16, p. 100466, 2019.

OLADOJA, N. A. Headway on natural polymeric coagulants in water and wastewater treatment operations. **Journal of Water Process Engineering**, v. 6, p. 174–192, 2015.

OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison between coagulation- flocculation and ozone-flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond. **Bioresource Technology**, v. 259, p. 334–342, 2018.

PRADO, A. G. S. et al. Comparative adsorption studies of indigo carmine dye on chitin and chitosan. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 43–47, 2004.

PUGAZHENDHI, A. et al. A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers. **Biotechnology Reports**, v. 20, n. 2018, 2019.

RASHID, N.; REHMAN, S. U.; HAN, J. I. Rapid harvesting of freshwater microalgae

using chitosan. **Process Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1107–1110, 2013.

REN, H. et al. A new lipid-rich microalga *Scenedesmus* sp. strain R-16 isolated using Nile red staining: effects of carbon and nitrogen sources and initial pH on the biomass and lipid production. **Biotechnology for Biofuels**, v. 6, n. 143, p. 1–10, 2013.

RENAULT, F. et al. Chitosan for coagulation/flocculation processes - An eco-friendly approach. **European Polymer Journal**, v. 45, n. 5, p. 1337–1348, 2009.

ROCHA, D. N. et al. Combination of trace elements and salt stress in different cultivation modes improves the lipid productivity of *Scenedesmus* spp. **Bioresource Technology**, v. 289, 121644, 2019.

ROSELET, F. et al. Screening of commercial natural and synthetic cationic polymers for flocculation of freshwater and marine microalgae and effects of molecular weight and charge density. **Algal Research**, v. 10, n. 1, p. 183–188, 2015.

RUDÉN, C. Acrylamide and cancer risk — expert risk assessments and the public debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 335–349, 2004.

SLADE, R.; BAUEN, A. Micro-algae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p. 29–38, 2013.

UDOM, I. et al. Bioresource Technology Harvesting microalgae grown on wastewater. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 101–106, 2013.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.

WU, Z. et al. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 496–502, 2012.

XU, Y.; PURTON, S.; BAGANZ, F. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalgae *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 296–301, 2013.

YUNOS, F. H. M. et al. Harvesting of microalgae (*Chlorella* sp.) from aquaculture bioflocs using an environmental-friendly chitosan-based bio-coagulant. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 124, p. 243–249, 2017.

ZHANG, W. et al. Variations of floc morphology and extracellular organic matters (EOM) in relation to floc filterability under algae flocculation harvesting using polymeric titanium coagulants (PTCs). **Bioresource Technology**, v. 256, 2018.

4 ARTIGO TÉCNICO-CIENTÍFICO: Otimização da recuperação da microalga *Scenedesmus* sp. com uso de coagulantes obtidos a partir das plantas *M. oleífera* e *G. ulmifolia*

4.1 INTRODUÇÃO

Microalgas são estudadas devido à capacidade de acumular compostos como lipídeos e proteínas, que podem ser destinados à produção de biocombustíveis e fonte de alimentação (CHEW et al., 2018; HOUSER et al., 2014). Apesar do potencial, a produção de biocombustíveis a partir de microalgas ainda não é competitiva no mercado devido aos elevados custos de produção em larga escala (TEIXEIRA; KIRSTEN; TEIXEIRA, 2012). A recuperação ou colheita da biomassa, que consiste em concentrar as células e separá-las do meio líquido, é etapa custosa, uma vez que as microalgas possuem tamanho entre 3 e 50 µm e são dotadas de cargas superficiais negativas que promovem estabilidade das células no meio de crescimento (WU et al., 2012).

Técnicas envolvendo centrifugação, filtração, sedimentação, floculação e coagulação química são estudadas com a finalidade de recuperação de microalgas, sendo comum combinar dois ou três procedimentos a fim de obter maior eficiência e reduzir tempo e custos (BARROS et al., 2015; HAMID et al., 2016).

A combinação da coagulação-floculação é utilizada para promover a agregação das células e facilitar a recuperação da biomassa com custos razoáveis (AHMAD et al., 2011; HAMID et al., 2016). Enquanto a coagulação envolve processos químicos e físicos que desestabilizam as cargas das microalgas, a floculação promove a agregação das partículas desestabilizadas formando flocos mais densos e capazes de se sedimentar (GUTIÉRREZ et al., 2015). Ressalta-se que as microalgas podem se sedimentar naturalmente, porém, esse processo é lento e requer grande demanda de área. Assim, para acelerar os procedimentos, a escolha de um coagulante apropriado é essencial para a eficiência da coagulação-floculação (GRIMA et al., 2003; HOUSER et al., 2014).

Dentre algumas limitações do emprego da coagulação seguida da floculação podem-se destacar alto valor dos reagentes químicos, elevada dependência do pH, dificuldade na separação do coagulante da biomassa, eficiência de recuperação dependente do coagulante usado e limitação na reciclagem do meio de cultivo devido à possibilidade de contaminação (SINGH; PATIDAR, 2018). Esses problemas estão associados normalmente ao uso de coagulantes químicos, como

sais inorgânicos (FeCl_3 , Al_2SO_4) e polímeros catiônicos sintéticos, como a poliacrilamida (HAMID et al., 2014; RENAULT et al., 2009; YUNOS et al., 2017). Além disso, esses compostos podem promover consequências ambientais como contaminação de corpos hídricos por metais pesados, produção de elevados volumes de lodo tóxico e dispersão de resíduos de acrilamida que são perigosos à saúde humana (RENAULT et al., 2009; RUDÉN, 2004).

Por essa razão, os estudos e aplicações de polímeros naturais devem ser amplamente explorados, pois, esses compostos são biodegradáveis e não apresentam riscos à saúde (SINGH; PATIDAR, 2018). Assim, os polímeros naturais são considerados opções viáveis para reduzir o uso de coagulantes químicos, permitindo a aplicação de método simples e limpo para recuperação das microalgas (CHOY et al., 2018).

Os coagulantes naturais mais recorrentes para a recuperação de biomassa de microalgas são a quitosana, taninos de *Acacia* sp. e amidos (FUAD et al., 2018; HAMID et al., 2014). Porém, o processamento para obtenção e purificação desses compostos eleva os custos da técnica e inviabilizam o uso comercial (CHOY et al., 2018; GRANADOS et al., 2012; HAMID et al., 2016). Outros produtos com propriedades coagulantes e que exigem menor manipulação são descritos na literatura, como sementes da espécie vegetal *Moringa oleifera*.

A *M. oleifera* é uma árvore facilmente encontrada na América do Sul (HAMID et al., 2014), suas sementes possuem alto teor de proteínas que são responsáveis pelo potencial coagulante (VUNAIN et al., 2019). Em extrato salino, esses compostos ativos são polieletrólitos e estudos citam eficiências superiores a 75% na recuperação de microalgas (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019). Apesar de ser um coagulante já descrito na literatura, a interação do cultivo de microalgas com o coagulante pode ser variável, sendo viável o uso de ferramentas estatísticas multivariadas para auxiliar na otimização desse coagulante (PANDEY et al., 2019). Essas ferramentas são eficientes para analisar respostas influenciadas por muitas variáveis, com a vantagem de se obter menor número de ensaios (MUSA et al., 2018).

Outra espécie amplamente encontrada em países de clima tropical é a *Guazuma ulmifolia*, popularmente conhecida como mutambeira, cabeça de negro, periquiteira, embireira, pau-de-motamba, dentre outros (EMBRAPA, 2007). Relatos do uso de cascas de *G. ulmifolia* para clarificar rapadura durante seu processo de

produção, motivaram estudos a fim de verificar o potencial desse vegetal para remoção de turbidez de águas superficiais por coagulação-floculação (DELGADO et al., 2016; FERIA-DÍAZ; RODIÑO-ARGUELLO; GUTIÉRREZ-RIBON, 2016). Muniz (2018) relatou que o uso de extrato das cascas de *G. ulmifolia* promoveu remoção de turbidez de efluente lácteo sintético superior a 90%. Uma vez que o uso da espécie apresenta-se como alternativa promissora para tratamento de água e efluentes, faz-se necessário explorar o potencial de coagulação de seu extrato para recuperar biomassa de microalgas tendo como premissas à simplicidade técnica, baixo custo de aquisição e obtenção do extrato, além do caráter sustentável.

Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho, avaliar o potencial de recuperação da microalga *Scenedesmus* sp., por meio de coagulação-floculação utilizando-se coagulantes naturais *Moringa oleifera* e *Guazuma ulmifolia*, pela otimização das variáveis pH, dose de coagulante e tempo de sedimentação.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Cultivo de microalgas, preparo dos coagulantes e quantificação de células

A espécie *Scenedesmus* sp. foi cultivada em sistema de cultivo aberto do tipo *raceway*, que consiste, simplificada, em lagoa de baixa profundidade, a qual utiliza a luz solar para produção de biomassa (GUPTA et al., 2015). O cultivo foi realizado por Rocha et al. (2019) em meio de cultura L4-m, já descrito no Capítulo 3.

Nesse experimento, para realizar os ensaios de coagulação-floculação, foram usadas as sementes de *Moringa oleifera* e cascas de *Guazuma ulmifolia*, coletadas na região Norte do estado de Minas Gerais. Ambas as soluções estoque de coagulantes foram preparadas em maiores concentrações para evitar diluição da suspensão de microalgas (GUPTA et al., 2014). Além disso, as soluções foram preparadas no mesmo dia dos ensaios para evitar perdas das propriedades coagulantes e alteração do volume final das cubas (BELTRÁN-HEREDIA; MARTÍN, 2008; GERCHMAN et al., 2017). Assim, após a adição dos coagulantes, a alteração do volume final foi inexpressiva, menor que 3%.

As sementes de *M. oleifera* foram descascadas e secas em estufa de circulação de ar forçado a 50°C por 24 horas, o que esteve de acordo com Hamid et al. (2016) que reportam que a manutenção de temperaturas abaixo de 60°C é

importante para evitar danos às proteínas da semente. Após a secagem, as sementes foram trituradas em liquidificador doméstico, seguido de peneiramento a fim de padronizar as partículas com dimensões superiores a 65 mesh. Em seguida, 5 g do pó foram dissolvidos em 100 mL de solução de NaCl (Synth, P.A.) 1M em agitação constante por 30 min. Por fim, a solução foi filtrada por duas vezes, a primeira em filtro de celulose e a segunda em filtro de microfibras de vidro (47 µm), conforme metodologia proposta por Beltrán-Heredia; Martín (2008). Assim, a partir da solução padrão de 50 g L⁻¹, diferentes diluições foram preparadas e usadas nesse experimento.

As cascas de *G. ulmifolia* foram secas em estufa com circulação de ar forçado durante 12 h a 50°C, trituradas em liquidificador doméstico e peneiradas para a padronização das partículas com dimensões superiores a 115 mesh (MUNIZ, 2018). Em seguida, seguindo metodologia proposta por Rodiño-Arguello et al. (2015), a solução padrão de 10 g L⁻¹ foi preparada dissolvendo-se 10 g do material em 1 L de solução de NaCl (Synth, P.A.) 1% (m/v) sob agitação constante por 1 h. Ressalta-se que o uso de *G. ulmifolia* é pouco relatado na literatura com a finalidade de tratamento de água e inédito para recuperação de biomassa de microalgas. As diluições para as concentrações estudadas (0 a 50 mg L⁻¹) foram realizadas coletando-se o sobrenadante da solução padrão.

A leitura da densidade óptica (DO) foi feita tal como descrito no Capítulo 3 da presente dissertação.

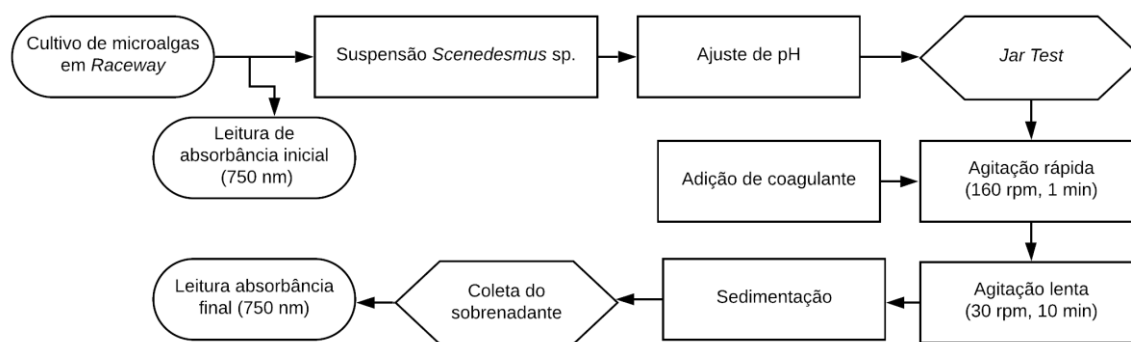
4.2.2 Determinação da eficiência de coagulação-floculação

O *Jar Test* (teste do jarro), modelo AT700 (Alfa Tecnoquímica), foi usado a fim de otimizar o processo de coagulação-floculação. Um esquema do processo está disposto na Figura 4.1.

Os béqueres foram preenchidos com 500 mL de suspensão de microalgas, filtradas previamente para remoção de células velhas, resultando em absorbância inicial média entre 0,07 a 0,08. Foram otimizadas as doses de coagulantes (*M. oleifera* entre 0 e 80 mg L⁻¹ e *G. ulmifolia* entre 0 e 50 mg L⁻¹), faixa de pH (entre 4 e 9) e tempo de sedimentação (entre 3 a 30 min). Os níveis máximos e mínimos foram escolhidos após testes preliminares (*screening*) e observando-se a importância dessas variáveis na coagulação-floculação. O pH foi alterado para cada ensaio utilizando-se soluções de HCl (2M) e NaOH (2M).

Na fase de mistura rápida, a suspensão de microalgas foi agitada a 160 rpm durante 1 minuto. Em seguida, na mistura lenta, a suspensão foi agitada a 30 rpm por 10 minutos, conforme testes preliminares e método adaptado de Lananan et al. (2016) e Oliveira et al. (2018). Ao final dos ensaios, amostras foram coletadas a 2 cm da superfície e seguido da leitura de suas absorvâncias.

Figura 4.1 - Etapas de coagulação-floculação utilizando-se *Jar test*



Fonte: Do autor (2020).

4.2.3 Análise do potencial zeta

Avaliou-se o potencial zeta dos coagulantes estudados e da suspensão de microalgas a fim de entender o mecanismo de ação dos coagulantes. As análises foram feitas no Laboratório de Embalagens do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, no aparelho Zetasizer Nano-ZS (Malvern).

4.2.4 Planejamento experimental

O delineamento composto central rotacional (DCCR) foi utilizado para otimizar a dose de coagulante, pH do meio e tempo de sedimentação, por meio da coagulação-floculação, a fim de recuperar maior quantidade de biomassa de microalgas.

A escolha das variáveis foi feita por meio de testes preliminares e objetivando ter o menor número possível de ensaios. Assim, foram escolhidas as variáveis dose, pH e tempo de sedimentação. A escolha dos termos que permaneceriam ou não nos modelos de predição foi feita seguindo a ordem de significância observada nos gráficos de Pareto. O DCCR consistiu em esquema

fatorial 2³, mais seis pontos axiais e seis pontos centrais, totalizando 20 ensaios, que foram realizados aleatoriamente. Como ressaltado anteriormente, os níveis altos e baixos foram escolhidos após revisão da literatura, bem como após ensaios preliminares. Os níveis de dosagem de coagulante, pH e tempo de sedimentação estudados são mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Níveis codificados e reais das variáveis independentes no DCCR

Coagulante	Variáveis independentes	Níveis das variáveis independentes				
		-α	-1	0	+1	+ α
<i>M. oleifera</i>	Dose (mg L ⁻¹)	0,00	16,21	40,00	63,78	80,00
	pH	4,00	5,01	6,50	7,98	9,00
	Tempo de sedimentação (min)	3,00	8,47	16,50	24,52	30,00
<i>G. ulmifolia</i>	Dose (mg L ⁻¹)	0,00	10,13	25,00	39,86	50,00
	pH	4,00	5,01	6,50	7,98	9,00
	Tempo de sedimentação (min)	3,00	8,47	16,50	24,52	30,00

O efeito das variáveis pH, dose de coagulante e tempo de sedimentação foram avaliados pela análise de variância (ANOVA). Após obtenção dos modelos de predição, gráficos de contorno foram gerados para que os efeitos das variáveis e suas interações fossem estudados (HAUWA et al., 2017). Para a análise dos dados foi utilizado o programa Minitab versão 2018, enquanto os gráficos foram gerados pelo Statistica versão 2010.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Resultados da eficiência de coagulação-floculação

Nas Tabelas 4.2 e 4.3 estão dispostos os resultados obtidos nos testes do jarro utilizando-se *M. oleifera* e *G. ulmifolia*, respectivamente, como coagulantes.

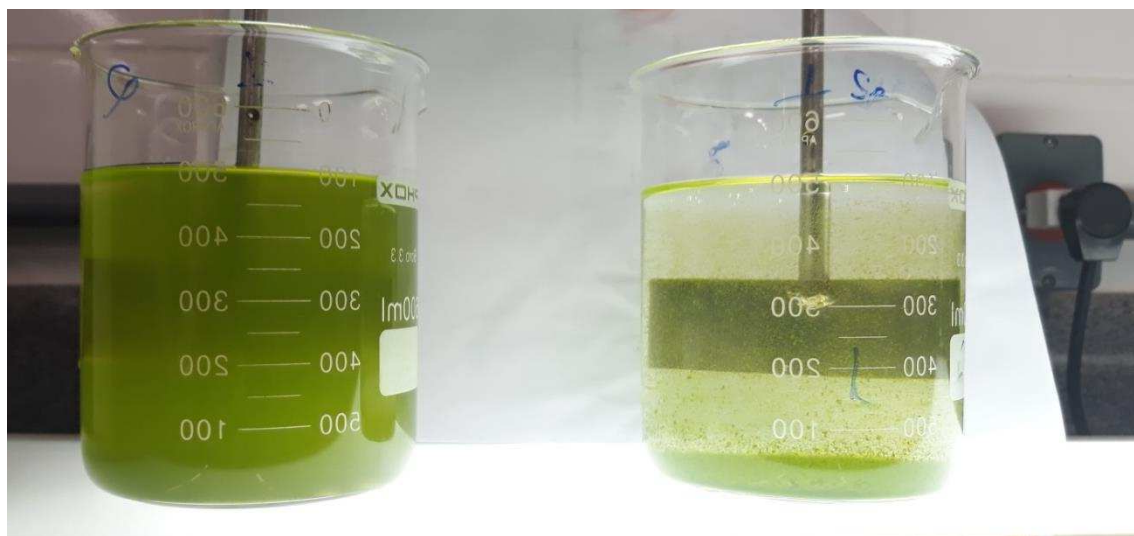
Tabela 4.2 – Níveis reais dos fatores estudados, remoção da densidade óptica e eficiência de remoção da *M. oleifera*

Ensaio	<i>M. oleifera</i>				
	Dose (mg L ⁻¹)	pH	Tempo de sedimentação (min)	DO _{REM} *	Eficiência DO _{REM} * (%)
1	16,21	5,01	8,47	0,0336	40,7
2	63,78	5,01	8,47	0,0176	22,3
3	16,21	7,98	8,47	0,0260	32,9
4	63,78	7,98	8,47	0,0120	15,2
5	16,21	5,01	24,52	0,0279	38,0
6	63,78	5,01	24,52	0,0419	50,7
7	16,21	7,98	24,52	0,0094	12,8
8	63,78	7,98	24,52	0,0476	58,0
9	0,00	6,50	16,50	0,0184	22,0
10	80,00	6,50	16,50	0,0161	19,6
11	40,00	4,00	16,50	0,0662	80,6
12	40,00	9,00	16,50	0,0133	16,7
13	40,00	6,50	3,00	0,0024	3,3
14	40,00	6,50	30,00	0,0196	24,7
15	40,00	6,50	16,50	0,0145	17,3
16	40,00	6,50	16,50	0,0132	16,6
17	40,00	6,50	16,50	0,0193	23,4
18	40,00	6,50	16,50	0,0302	37,7
19	40,00	6,50	16,50	0,0146	17,8
20	40,00	6,50	16,50	0,0246	31,1

Nota: DO_{REM}*: Densidade óptica removida em 750 nm.

Utilizando-se *M. oleifera* como coagulante, obteve-se eficiência de 80% de DO_{REM} com dose de 40 mg L⁻¹, meio em pH 4 e 16,5 min de tempo de sedimentação (Tabela 4.2). Observa-se, também, que houve remoção de DO em ensaio com ausência de coagulante. Isso ocorreu devido ao processo de sedimentação natural da microalga, pois, há o consumo de CO₂ no meio que leva a precipitação de fosfatos, excretas de microalgas ou bactérias, além da tendência de sedimentação de células velhas (UDOM et al., 2013). Apesar disso, observa-se que nos ensaios com adição de coagulante, aliados ao ajuste de pH e maiores tempos de sedimentação, promoveu-se maiores porcentagens de recuperação de biomassa, como pode ser observado na Figura 4.2.

Figura 4.2 – Coagulação-floculação de microalgas sem adição de *M.oleifera* (à esquerda) e com coagulante (à direita) correspondentes aos ensaios 9 e 11, respectivamente (Tabela 4.2)



Fonte: Do autor (2020).

Em relação à *G. ulmifolia*, verifica-se que a mesma demonstrou potencial como coagulante na recuperação de biomassa de microalga (Tabela 4.3). Observou-se máxima de remoção de microalgas, aproximadamente 70%, em pH 4, dose de 25 mg L⁻¹ e 16,5 min de tempo de sedimentação. Uma vez que não se tem relatos desse coagulante na coagulação-floculação de microalgas, considera-se que, para o primeiro estudo, esse material demonstrou potencial na recuperação de *Scenedesmus* sp. A eficiência ao final dos ensaios 9 e 11 também pode ser observada na Figura 4.3.

Tabela 4.3 - Níveis reais dos fatores estudados e remoção da densidade óptica, seguidos por eficiência de *G. ulmifolia*

Ensaio	<i>G. ulmifolia</i>				
	Dose (mg L ⁻¹)	pH	Tempo de sedimentação	DO _{REM} *	Eficiência DO _{REM} * (%)
1	10,13	5,01	8,47	0,0142	21,5
2	39,86	5,01	8,47	0,0209	30,7
3	10,13	7,98	8,47	0,0000	0,0
4	39,86	7,98	8,47	0,0000	0,0
5	10,13	5,01	24,52	0,0118	16,7
6	39,86	5,01	24,52	0,0165	25,0
7	10,13	7,98	24,52	0,0049	7,0
8	39,86	7,98	24,52	0,0041	5,6
9	0,00	6,50	16,50	0,0000	0,0
10	50,00	6,50	16,50	0,0010	1,3
11	25,00	4,00	16,50	0,0500	69,4
12	25,00	9,00	16,50	0,0020	2,7
13	25,00	6,50	3,00	0,0000	0,0
14	25,00	6,50	30,00	0,0057	7,7
15	25,00	6,50	16,50	0,0000	0,0
16	25,00	6,50	16,50	0,0000	0,0
17	25,00	6,50	16,50	0,0032	5,0
18	25,00	6,50	16,50	0,0036	5,5
19	25,00	6,50	16,50	0,0076	10,6
20	25,00	6,50	16,50	0,0132	18,0

Nota: DO_{REM}*: Densidade óptica removida em 750 nm.

Figura 4.3 – Coagulação-floculação de microalgas sem adição de *G. ulmifolia* (à esquerda) e com coagulante (à direita) correspondentes aos ensaios 9 e 11, respectivamente (Tabela 4.3)



Fonte: Do autor (2020).

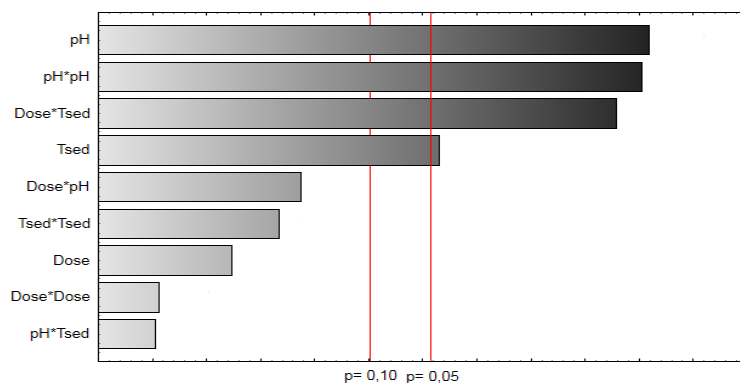
Diferentemente do ensaio com *M. oleifera*, no ensaio com *G. ulmifolia* não foram observadas remoções no ensaio 9 (ausência de coagulante) o que pode estar relacionado a baixa quantidade de células velhas e menor precipitação de fosfatos.

4.3.2 Obtenção dos modelos preditivos

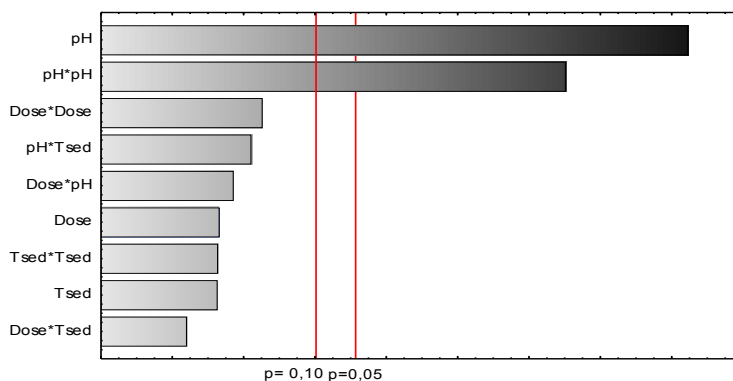
Na Figura 4.4, visualiza-se o gráfico de Pareto para as regressões estudadas de DO_{REM} por *M. oleifera* e *G. ulmifolia*. As barras que ultrapassam as linhas verticais são significativas a 5 e 10% de probabilidade.

Figura 4.4 – Efeito de Pareto para densidade óptica removida utilizando-se (a) *M. oleifera* e (b) *G. ulmifolia*, a nível de 5 e 10% de significância

a)



b)



Observa-se na Figura 4.4, que a significância das variáveis foi diferente para cada modelo, assim, eliminaram-se as variáveis menos significativas, observando-se também a hierarquia das variáveis a fim de gerar modelos mais simples, mantendo-se boa capacidade preditiva. As equações geradas são apresentadas nas Equações 4.1 e 4.2 para *M. oleifera* e *G. ulmifolia*, respectivamente.

$$DO_{\text{REMOV}/M.oleifera} = 0,2357 - 0,000831 * \text{Dose} - 0,0542 * \text{pH} - 0,001547 * \text{Tsed} + 0,00373 * \text{pH} * \text{pH} + 0,000054 * \text{Dose} * \text{Tsed}$$

(Equação 4.1)

$$DO_{\text{REMOV}/G.ulmifolia} = 0,1831 + 0,000421 * \text{Dose} - 0,05032 * \text{pH} - 0,000007 * \text{Dose} * \text{Dose} + 0,003359 * \text{pH} * \text{pH}$$

(Equação 4.2)

Verificou-se que os modelos de regressão foram significativos a 95% de probabilidade. Além disso, a falta de ajuste não significativa ($p > 0,05$) indica que os modelos se ajustaram aos dados. Modelos com R^2 acima de 0,8 são considerados bem ajustados e $R^2 < 0,6$ são usados somente como indicadores de tendência (NAJIB et al., 2017, BARROS NETO et al., 2007). No presente trabalho obteve-se que o modelo explica 74,5% da variação na resposta ao utilizar-se *M. oleifera* como coagulante e 84,8% ao utilizar-se *G. ulmifolia*. Constatou-se na análise de homocedasticidade que o erro afetou todos os pontos igualmente e observou-se independência dos resíduos, pois, não houve tendência entre esses. Entretanto, devido à variabilidade do material biológico e a adequação dos outros índices citados, os modelos foram considerados apenas razoáveis para predizer os resultados encontrados.

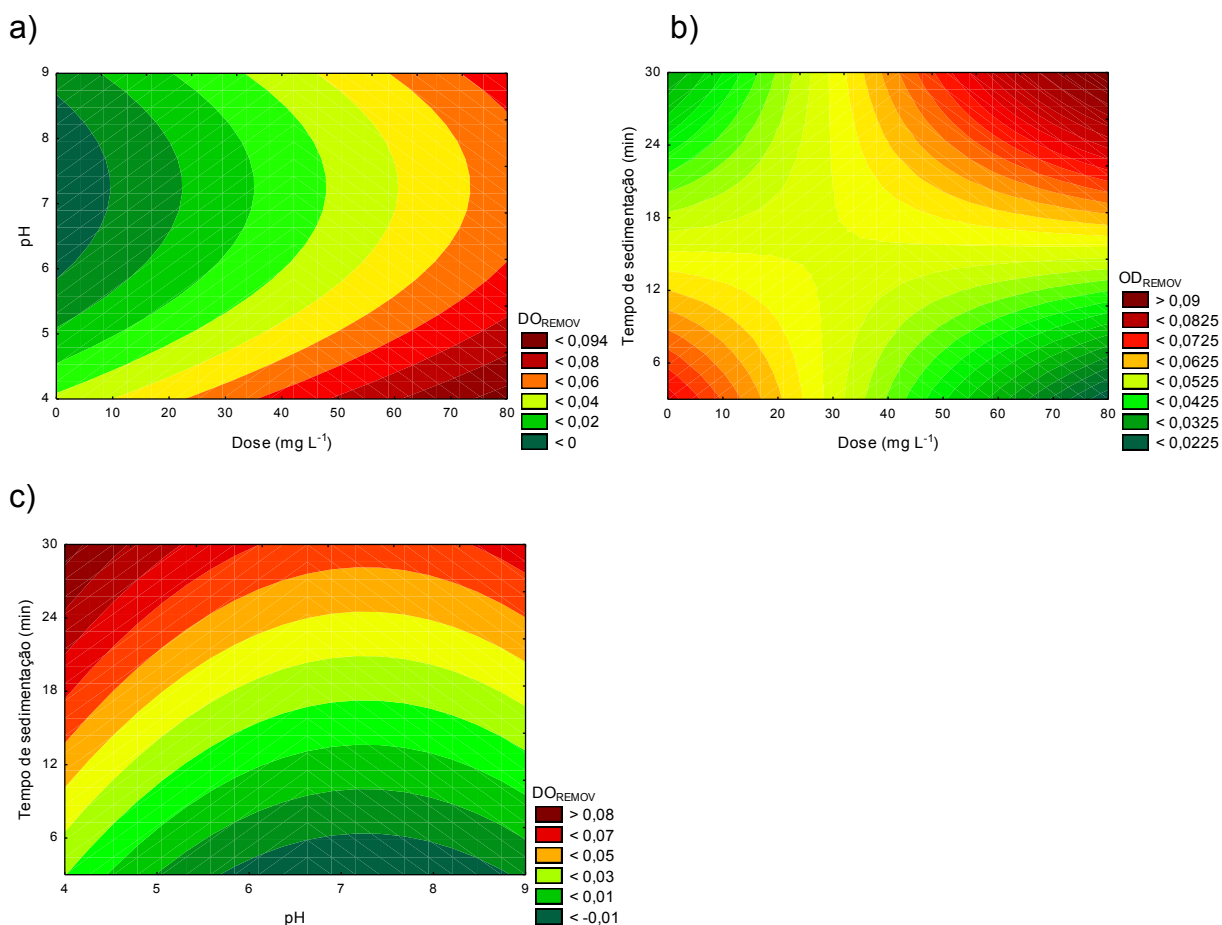
Na etapa de otimização, maior densidade ótica removida foi considerada como alvo para ambos os modelos. Para *M. oleifera*, os valores foram: dose de 80 mg L⁻¹, pH 4 e tempo de sedimentação de 30 min, com desempenho esperado de 100%. Já para *G. ulmifolia*, as melhores condições foram: dose de 30 mg L⁻¹, pH 4 e tempo de sedimentação de 3 min, com desempenho superior a 60%.

4.3.3 Desempenho dos coagulantes utilizados

A procura por coagulantes verdes e não tóxicos é necessária a fim de minimizar ou substituir o uso de coagulantes químicos como sais metálicos e poliacrilamida (AHMAD et al., 2011; HAMID et al., 2016). Para isso, analisar as interações entre variáveis independentes promove informações mais reais a respeito dos melhores parâmetros operacionais do processo em comparação com otimizações tradicionais lineares em que um parâmetro é avaliado fixando-se os outros (HAUWA et al., 2017).

Na Figura 4.5 são apresentadas as regiões indicativas de melhor eficiência utilizando-se a *M. oleifera*. As regiões encontradas foram obtidas fixando-se as variáveis nos pontos ótimos indicados pelo programa Minitab.

Figura 4.5 – Gráfico de contorno demonstrando o efeito da dose, pH e tempo de sedimentação utilizando-se *M. oleifera* para (a) interação Dose e pH (b) Dose e tempo de sedimentação (c) pH e tempo de sedimentação



As sementes de *M. oleifera* são amplamente citadas na literatura para tratamento de água para abastecimento (BARRADO-MORENO; BELTRAN-HEREDIA; MARTIN-GALLARDO, 2016). Devido ao conteúdo de proteínas com propriedades coagulantes, essas sementes são aplicadas também para a recuperação de biomassa de microalgas (HAMID et al., 2016). Além disso, o uso de *M. oleifera* como agente coagulante pode reduzir custos e promover recuperação de microalgas de modo sustentável (HAMID et al., 2016).

Embora a técnica e o coagulante utilizados na recuperação devam ser independentes da espécie de microalga, as diferentes características das mesmas e condições de cultivo alteram a composição e superfície celular e implicam em otimização de condições para cada realidade (PANDEY et al., 2019; UDOM et al., 2013). Na Figura 4.5, os gráficos de contorno representam a maior DO_{REM} da relação entre duas variáveis (AHMADI et al., 2015). Foi encontrado que a remoção de biomassa utilizando-se *M. oleifera* varia com dose, pH e tempo de sedimentação. Observa-se que a eficiência é maior em meio ácido, dose de 80 mg L^{-1} e tempo de sedimentação de 30 minutos (Figura 4.5).

O ajuste de pH foi de fundamental importância no processo de coagulação-floculação, uma vez que o meio ácido resultou em maior eficiência devido à favorável desestabilização coloidal. O pH do meio influencia na carga superficial tanto das microalgas quanto dos coagulantes (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019). Diversas faixas de pH são descritas como ótimas para coagulação-floculação de microalgas com *M. oleifera*. A combinação de pH alcalino, onde ocorre a autofloculação das células de microalgas, e uso do extrato de *M. oleifera* promoveram elevadas eficiências em outros estudos (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; TEIXEIRA; KIRSTEN; TEIXEIRA, 2012). Teixeira, Kirsten, Teixeira (2012) observaram que a eficiência da coagulação-floculação de *Chlorella vulgaris* foi 48% menor no pH 4 em relação ao pH 9. No entanto, Barrado-Moreno; Beltran-Heredia; Martin-Gallardo (2016) relatam que não houve diferença significativa entre pH 5 a 9, resultando em recuperação de 80 a 90% de *Scenedesmus* sp.. Essas diferenças reforçam que cada cultivo tem suas características próprias e devem ser otimizadas para cada coagulante empregado (PANDEY et al., 2019).

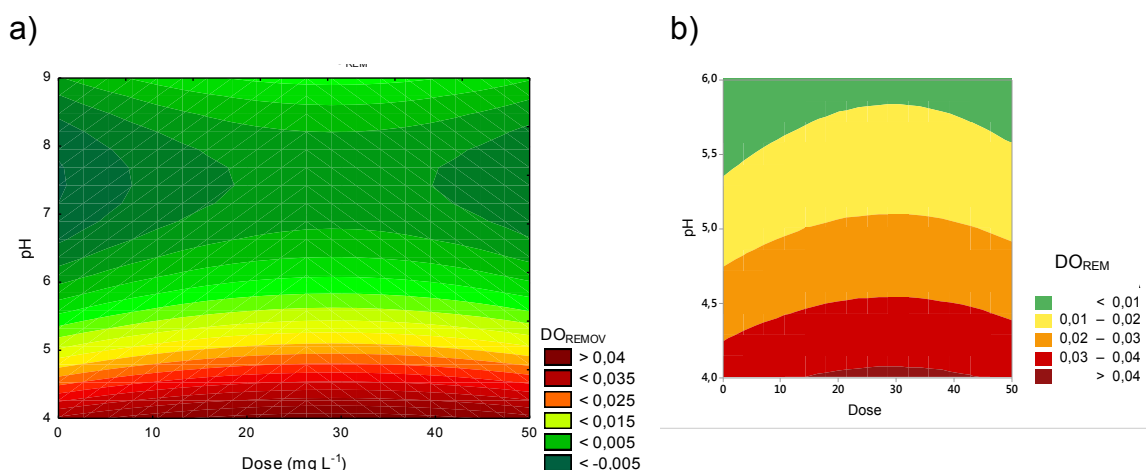
A dose de coagulante aplicada também foi relevante para obtenção de maiores eficiências. A variação da dose também depende da concentração da biomassa no meio de cultivo (BARRADO-MORENO; BELTRAN-HEREDIA; MARTIN-GALLARDO, 2016). Nesse estudo, não se variou a concentração de biomassa, que foi em média de $0,1 \text{ g L}^{-1}$, determinada no final da fase estacionária. Para essa quantidade de biomassa, observou-se na Figura 4.4 (a) e (b) que concentrações entre 70 e 80 mg L^{-1} promovem elevadas remoções de microalga. Os ensaios de coagulação de Behera e Balasubramanian, (2019) para recuperar biomassa de consórcio de *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. e *Spirulina* sp. resultaram em dose 10

vezes maior que a obtida nesse estudo e eficiência de 75% para concentração de biomassa $0,5 \text{ g L}^{-1}$. Esses autores ressaltam que há correlação linear entre dose de coagulante e concentração de microalgas, em que a máxima eficiência ocorre com aumento da concentração de biomassa e redução da dose de coagulante.

Além disso, a recuperação de biomassa acima de 90% utilizando *M. oleifera* é relatada na literatura, entretanto, tempos de sedimentação entre 1 a 4 h podem ser observados (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; HAUWA et al., 2017). Dessa forma, os resultados aqui apresentados para recuperação da *Scenedesmus* sp. aqui estudada podem ser considerados adequados, uma vez que 30 min foram suficientes para promover eficiência coerente frente aos valores reportados na literatura.

A espécie *G. ulmifolia* demonstrou potencial para a recuperação de biomassa de *Scenedesmus* sp. Observa-se na Figura 4.6 que meio ácido aliado a dose de 30 mg L^{-1} promovem a maior recuperação de biomassa de microalgas. O tempo de sedimentação não influenciou nos resultados podendo ser escolhido o menor tempo para agilizar e simplificar o processo de coagulação-floculação da espécie estudada.

Figura 4.6 – Gráfico de contorno demonstrando (a) o efeito da dose e pH utilizando-se *G.ulmifolia* (b) efeito de dose e pH em escala reduzida



A *G. ulmifolia* foi estudada para remoção de turbidez de água superficial no pH natural entre 7 e 8, encontrou-se eficiência de 60% e pH do meio inalterado após o tratamento com esse coagulante (FERIA-DÍAZ; RODIÑO-ARGUELLO; GUTIÉRREZ-RIBON, 2016). Os estudos de Rodiño-Arguello et al. (2015) relatam

atividades coagulantes semelhantes entre *G. ulmifolia* e *M. oleifera*, demonstrando eficiência entre 70 e 80% para turbidez inicial de água superficial bruta de 100 UNT. Já os estudos de Muniz (2018) com água sintética de laticínio, cuja turbidez inicial foi de 700 UNT, apontam eficiência maior que 90% utilizando *G. ulmifolia* com dose ótima de 775 mg L⁻¹ em pH 5.

Diferentes coagulantes naturais são estudados para recuperação de biomassa de microalgas devido à necessidade de tornar o processo mais simples, economicamente viável e de menor impacto ao meio ambiente (ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018). As variações no desempenho dos coagulantes naturais são relacionadas à densidade de carga e peso molecular dos polímeros (UDOM et al., 2013). É importante destacar também que o melhor pH de coagulação depende de cada coagulante, da espécie e da concentração da microalga, a exemplo disso, é relatado que *Chlorella* sp coagula melhor meio alcalino enquanto *Scenedesmus* sp coagula melhor em meio ácido (MAJI et al., 2018).

Espécies vegetais como *Opuntia cactos*, *Strychnos potato*, *Ficus indica*, *Conacarpus erectus*, *Azadirachta indica*, *Moringa oleifera*, além de outros componentes naturais como casca de ovo, amidos catiônicos e quitosana são relatados na literatura com eficiências variando de 40 a 90% para recuperar diversas microalgas (ALI; MUSTAFA; SALEEM, 2018; BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; HAUWA et al., 2017; PANDEY et al., 2019; UDOM et al., 2013).

Paralelamente a *G. ulmifolia*, Behera e Balasubramanian (2019) obtiveram eficiência razoável de 60% na recuperação de consórcio de *Chlorella* sp, *Scenedesmus* sp., *Cynecocystis* sp e *Spirulina* sp, em pH 7,5 utilizando extrato da palma de *Ficus indica* (Figueira da Índia) como coagulante. A quitosana atingiu 80 % de recuperação de *Scenedesmus* em pH 7, segundo Gupta et al. (2014); enquanto *Moringa oleifera* alcançou 79% de recuperação de microalgas provenientes de esgoto doméstico em pH 6, conforme relata Ali; Mustafa; Saleem (2018).

Apesar da quitosana, amplamente citada devido a elevadas eficiências, ser de origem animal e não tóxica, o processo de derivatização da quitosana a partir da quitina eleva os custos e pode tornar sua aplicação inviável em larga escala (HAMID et al., 2016). A viabilidade econômica de coagulantes naturais como *M. oleifera* é difícil de se determinar, mas, por ser utilizada em países em desenvolvimento para tratamento de água e água residuária com custos razoavelmente baixos, também pode ser aplicado para recuperação de biomassa a

fim de se reduzir os custos do processo (TEIXEIRA; KIRSTEN; TEIXEIRA, 2012). Por essa razão, a busca por coagulantes naturais que obtenham eficiência e custos razoáveis deve continuar (NAYAK et al., 2019).

4.3.4 Análise do Potencial zeta

Os mecanismos de coagulação dependem das características superficiais das células de microalgas e dos coagulantes usados (ENAMALA et al., 2018). A carga superficial negativa das microalgas é relacionada principalmente à presença dos grupos funcionais carboxilas (-COOH), hidroxilas (-OH) e fosfatos (PO_4^{3-}) (GUPTA et al., 2018; NAYAK et al., 2019; PUGAZHENDHI et al., 2019). A espécie utilizada nesse estudo, por sua vez, possui carga aproximada de -4 a -12 mV, visto na Tabela 4.4. Além disso, a carga menos negativa foi observada em pH mais ácido, que foi a faixa que os coagulantes resultaram em maiores eficiências.

Observa-se na Tabela 4.4 que solução padrão de *M. oleifera*, cujo pH é 4,76, possui carga superficial positiva, embora menos carregada que outros coagulantes catiônicos, como quitosana. Por outro lado, a solução padrão de *G. ulmifolia*, cujo pH da solução é 5,60, possui carga superficial negativa.

Tabela 4.4 – Potencial zeta dos coagulantes e microalga

Potencial zeta (mV)			
Padrão moringa (pH 4,76)	1,97		
Padrão mutamba (pH 5,60)	-34,77		
	pH 4	pH 6,5	pH 9
Microalga (<i>Scenedesmus</i> sp.)	-4,44	-11,83	-11,23

A diferença de cargas entre o potencial zeta da microalga em pH 4 e de *M. oleifera*, indica que o mecanismo de neutralização de cargas pode ser responsável pela coagulação-floculação das microalgas, pois, as células negativamente carregadas são neutralizadas pelas cargas positivas do coagulante e dos íons resultantes do extrato salino (HAMID et al., 2016; MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2019). Além disso, a presença de íons no meio e a precipitação de minerais no cultivo podem carregar as células levando também a sedimentação, explicado pelo mecanismo de varredura (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; VANDAMME et al., 2013). Sabe-se ainda que a presença de extrato salino é responsável por extrair compostos ativos dos coagulantes naturais que auxiliam na coagulação, protonizar os polieletrólitos e, também, o aumento da presença de íons

na solução ajudam a reduzir a repulsão entre as células e facilitam a coagulação (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; MEGERSA et al., 2019). Como exemplo, para a *M. oleifera*, o extrato salino é responsável por extrair osmoticamente as proteínas para o meio aquoso (HAMID et al., 2016).

As cargas de mesmo sinal observado para as microalgas em pH 4 e solução de *G. ulmifolia* (Tabela 4.4) indicam que a adsorção de compostos das cascas de *G. ulmifolia* em conjunto com o mecanismo de pontes, onde polímeros de cadeia longa se estendem na solução formando *loops* que entrelaçam as células das microalgas e formam flocos maiores que sedimentam rapidamente, são relacionados à eficiência de coagulação por esse coagulante. Visto que, as interações entre as superfícies das partículas dos coloides e os coagulantes são estabilizadas por ligações covalentes, iônicas, pontes de hidrogênio, forças de atração moleculares ou de Van der Waals (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; BOLTO; GREGORY, 2007; RODIÑO-ARGUELLO et al., 2015).

Observou-se também, nesse estudo, que a remoção de microalgas nos ensaios sem a adição de coagulante ocorre porque com as mudanças de pH, a concentração de íons aumenta, esses combinam com íons bivalentes como Ca^{2+} presentes no meio de cultivo e precipitam no meio devido a elevada densidade de carga e superfície de adsorção que coagula as células das microalgas e sedimentam por gravidade, pelo mecanismo de varredura (BEHERA; BALASUBRAMANIAN, 2019; VANDAMME; FOUBERT; MUYLAERT, 2013).

4.4 CONCLUSÕES

Os coagulantes naturais estudados mostraram potencial para recuperação de biomassa de *Scenedesmus* sp. com eficiências superiores a 60% e 80% para *G. ulmifolia* e *M. oleifera*, respectivamente. Confirmou-se a eficiência de *Moringa oleifera* e a *Guazuma ulmifolia*, inédita para recuperação de células de microalgas, apresentou satisfatória remoção de biomassa produzida em cultivos abertos. Ambos os coagulantes mostraram melhor desempenho em meio ácido, pH 4, confirmando que cada coagulante deve ser otimizado para coagulação-floculação de uma microalga específica, visto que ocorrem variações devido à composição das células e interação microalga-coagulante. Além disso, observou-se que esses

coagulantes podem ser utilizados para recuperação de biomassa microalgal sem causar danos ao meio ambiente.

O processo de coagulação-floculação mostrou-se eficiente e resultou em metodologia simples e rápida para o estudo, visto que, em menos de 1 hora é possível realizar todo o processo, desde a coagulação à sedimentação. Os modelos obtidos ajustaram-se bem aos dados. Com esse estudo, ressalta-se a necessidade de explorar outras faixas de concentração e pH para os coagulantes estudados, além de buscar por novos coagulantes naturais a fim de minimizar custos e tornar a recuperação de microalgas viável em larga escala.

4.5 REFERÊNCIAS

- AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. **Chemical Engineering Journal**, v. 173, n. 3, p. 879–882, 2011.
- AHMADI, R. et al. Optimization of Cr (VI) removal by sulfate-reducing bacteria using response surface methodology. **Desalination and Water Treatment**, n. May, p. 37–41, 2015.
- ALI, M.; MUSTAFA, A.; SALEEM, M. Comparative Study between Indigenous Natural Coagulants and Alum for Microalgae Harvesting. **Arabian Journal for Science and Engineering**, 2018.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FOUNDATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 23 ed. Washington: APHA, 2017.
- BARRADO-MORENO, M. M. .; BELTRAN-HEREDIA, J. .; MARTIN-GALLARDO, J. Microalgae removal with *Moringa oleifera*. **Toxicon**, v. 110, p. 68–73, 2016.
- BARROS, A. I. . et al. Harvesting techniques applied to microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1489–1500, 2015.
- BARROS NETO, B., SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3° ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007
- BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extract as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 45–52, 2019.
- BELTRÁN-HEREDIA, J.; MARTÍN, S. J. Azo dye removal by *Moringa oleifera* seed extract coagulation. **Coloration technology**, p. 310–317, 2008.
- BLEEKE, F.; MILAS, M.; WINCKELMANN, D. Optimization of freshwater microalgal biomass harvest using polymeric flocculants. **International Aquatic Research**, p. 235–244, 2015.
- BOLTO, B.; GREGORY, J. Organic polyelectrolytes in water treatment. **Water Research**, v. 41, p. 2301–2324, 2007.
- CHEN, L. et al. Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus sp.* cultivated in an open-pond system. **Bioresource Technology**, v. 133, p. 9–15, 2013.
- CHEW, K. W. et al. Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 0, p. 1–13, 2018.
- CHOY, S. Y. et al. Starch-based flocculant outperformed aluminium sulfate hydrate and polyaluminium chloride through effective bridging for harvesting acicular

microalga *Ankistrodesmus*. **Algal Research**, v. 29, n. February 2017, p. 343–353, 2018.

DELGADO, L. da C. et al. Aspectos culturais e ambientais no processo de produção de rapadura na comunidade de bonsucesso em Várzea Grande-MT. **Biodiversidade**, v. 15, p. 21–39, 2016.

DONG, C.; CHEN, W.; LIU, C. Flocculation of algal cells by amphoteric chitosan-based flocculant. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 170, p. 239–247, 2014.

Embrapa – Carvalho, P. E. R. Mutamba – *Guazuma ulmifolia*. Circular Técnica, 141, p. 1-13, 2007.

ENAMALA, M. K. et al. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation , harvesting , lipid extraction , and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, n. May 2017, p. 49–68, 2018.

FERIA-DÍAZ, J. J.; RODIÑO-ARGUELLO, J. P.; GUTIÉRREZ-RIBON, G. E. Behavior of turbidity, pH, alkalinity and color in Sinú River raw water treated by natural coagulants. **Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia**, n. 78, p. 119–128, 2016.

FUAD, N. et al. Effective use of tannin based natural biopolymer , AFlok-BP1 to harvest. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. February, p. 4318–4328, 2018.

GERCHMAN, Y. et al. Effective harvesting of microalgae: Comparison of different polymeric flocculants. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 141–146, 2017.

GRANADOS, M. R. et al. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 102–110, 2012.

GRIFFITHS, M. J. et al. Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. **Journal of Microbiological Methods**, v. 85, p. 119–123, 2011.

GRIMA, E. M. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7–8, p. 491–515, 2003.

GUPTA, S. K. et al. Design and development of polyamine polymer for harvesting microalgae for biofuels production q. **Energy Conversion and Management**, v. 85, p. 537–544, 2014.

GUPTA, S. K. et al. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 51, p. 875–885, 2015.

GUPTA, S. K. et al. Wastewater to biofuels: Comprehensive evaluation of various flocculants on biochemical composition and yield of microalgae. **Ecological Engineering**, v. 117, n. July 2017, p. 62–68, 2018.

GUTIÉRREZ, R. et al. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. **Algal Research**, v. 9, p. 204–211, 2015.

HAMID, S. H. A. et al. Harvesting microalgae, *Chlorella sp.* by bio-flocculation of *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phyto remediation. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 95, n. PA, p. 270–275, 2014.

HAMID, S. H. A. et al. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio- flocculation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 113, p. 310–317, 2016.

HAUWA, A. et al. Harvesting of *Botryococcus sp.* Biomass from Greywater by Natural Coagulants. **Waste and Biomass Valorization**, v. 0, n. 0, p. 0, 2017.

HOUSER, J. B. et al. Wastewater Remediation Using Algae Grown on a Substrate for Biomass and Biofuel Production. **Journal of Environmental Protection**, v. 05, n. 10, p. 895–904, 2014.

LAM, G. P. et al. Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 804–807, 2014.

LANANAN, F. et al. Optimization of biomass harvesting of microalgae, *Chlorella sp.* utilizing auto-flocculating microalgae, *Ankistrodesmus sp.* as bio-flocculant. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 113, p. 391–396, 2016.

LETELIER-GORDO, C. O. et al. Effective harvesting of the microalgae *Chlorella protothecoides* via bioflocculation with cationic starch. **BIORESOURCE TECHNOLOGY**, v. 167, p. 214–218, 2014.

MAJI, G. K. et al. Microalgae Harvesting via Flocculation: Impact of pH, Algae Species and Biomass Concentration. **Methods of Microbiology and Molecular Biology**, v. 1, n. 2, 2018.

MEGERSA, M. et al. Effect of salt solutions on coagulation performance of *Moringa stenopetala* and *Maerua subcordata* for turbid water treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 221, n. November 2018, p. 319–324, 2019.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. Flocculation: An effective way to harvest microalgae for biodiesel production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 4, p. 103221, 2019.

MUNIZ, G. L. **Otimização do tratamento de efluente lácteo sintético com o uso de coagulantes alternativos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2018.

NAJIB, T. et al. Optimization of sulfate removal by sulfate reducing bacteria using response surface methodology and heavy metal removal in a sulfidogenic UASB

reactor. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 4, p. 3256–3265, 2017.

NAYAK, M. et al. Performance evaluation of different cationic flocculants through pH modulation for efficient harvesting of *Chlorella* sp. HS2 and their impact on water reusability. **Renewable Energy**, v. 136, p. 819–827, 2019.

OLIVEIRA, G. A. et al. Comparison between coagulation- flocculation and ozone-flotation for *Scenedesmus* microalgal biomolecule recovery and nutrient removal from wastewater in a high-rate algal pond. **Bioresource Technology**, v. 259, n. March, p. 334–342, 2018.

PANDEY, A. et al. Experimental studies on zeta potential of flocculants for harvesting of algae. **Journal of Environmental Management**, v. 231, n. February 2018, p. 562–569, 2019.

PUGAZHENDHI, A. et al. A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers. **Biotechnology Reports**, v. 20, n. 2018, p. e00302, 2019.

RENAULT, F. et al. Chitosan for coagulation/flocculation processes - An eco-friendly approach. **European Polymer Journal**, v. 45, n. 5, p. 1337–1348, 2009.

ROCHA, D. N. et al. Combination of trace elements and salt stress in different cultivation modes improves the lipid productivity of *Scenedesmus* spp. **Bioresource Technology**, v. 289, 121644, 2019.

RODIÑO-ARGUELLO, J. P. et al. Sinú River raw water treatment by natural coagulants. **Revista Facultad de Ingeniería**, v. 2015, n. 76, p. 90–98, 2015.

ROSELET, F. et al. Screening of commercial natural and synthetic cationic polymers for flocculation of freshwater and marine microalgae and effects of molecular weight and charge density. **Algal Research**, v. 10, n. 1, p. 183–188, 2015.

RUDÉN, C. Acrylamide and cancer risk — expert risk assessments and the public debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 335–349, 2004.

SINGH, G.; PATIDAR, S. K. Microalgae harvesting techniques: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 217, p. 499–508, 2018.

TEIXEIRA, C. M. L. L.; KIRSTEN, F. V.; TEIXEIRA, P. C. N. Evaluation of *Moringa oleifera* seed flour as a flocculating agent for potential biodiesel producer microalgae. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p. 557–563, 2012.

UDOM, I. et al. Bioresource Technology Harvesting microalgae grown on wastewater. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 101–106, 2013.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.

VUNAIN, E. et al. Evaluation of coagulating efficiency and water borne pathogens reduction capacity of *Moringa oleifera* seed powder for treatment of domestic wastewater from Zomba , Malawi. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. April, p. 103–118, 2019.

WU, Z. et al. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 496–502, 2012.

YUNOS, F. H. M. et al. Harvesting of microalgae (*Chlorella* sp.) from aquaculture bioflocs using an environmental-friendly chitosan-based bio-coagulant. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 124, p. 243–249, 2017.

ZHANG, W. et al. Variations of floc morphology and extracellular organic matters (EOM) in relation to floc filterability under algae flocculation harvesting using polymeric titanium coagulants (PTCs). **Bioresource Technology**, v. 256, n. December 2017, p. 350–357, 2018.

5. CONCLUSÃO GERAL E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Observou-se que as condições de cultivo das microalgas interferem na eficiência de recuperação de *Scenedesmus* sp.. Assim, doses ótimas de coagulantes e faixas de pH diferentes das comumente relatadas na literatura foram obtidas.

O uso do polímero sintético poliacrilamida e do polímero natural quitosana resultou em elevada recuperação de biomassa -- maior que 90% -- com doses relativamente baixas e sem necessidade de alteração do pH do meio. Os modelos gerados pelo DCCR podem ser utilizados para fins preditivos quando $R^2 > 0,60$. Os custos da quitosana como coagulante natural são elevados, quando comparados ao polímero sintético, e, por isso, estudos de otimização que considerem os custos do processo como variável dependente também devem ser realizados.

Nos estudos com os coagulantes naturais *M. oleifera* e *G. ulmifolia* observou-se que estas espécies tem potencial na recuperação da biomassa de *Scenedesmus* sp., resultando em eficiências maiores que 70% e 60%, respectivamente. A *G. ulmifolia*, inédita para recuperação de biomassa de microalgas, mostrou-se efetiva para esse uso, no entanto, enfatiza-se que os testes foram realizados em escala de bancada.

Sugere-se que estudos sejam realizados para investigar outras variáveis que influenciam na eficiência desses coagulantes, como o tipo de fertilizante que a microalga é cultivada, variar a concentração de microalga e preparo de coagulantes naturais em outros extratos salinos com diferentes concentrações. Também são necessários estudos de otimização aplicando-se os coagulantes naturais em cultivo de microalgas em escala plena, levando também em consideração os custos como variável dependente.