

LETÍCIA RODRIGUES DE ASSIS

**CULTIVO DE MICROALGAS EM ESGOTO DOMÉSTICO COM  
UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍBRIDOS: LAGOAS DE ALTA TAXA E  
BIORREATOR EM FILME**

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

Viçosa  
Minas Gerais – Brasil  
2016

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

T

A848c  
2016 Assis, Leticia Rodrigues de, 1989-  
Cultivo de microalgas em esgoto doméstico com utilização  
de sistemas híbridos : lagoas de alta taxa e biorreator em filme /  
Leticia Rodrigues de Assis. – Viçosa, MG, 2016.  
xii, 88f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Maria Lúcia Calijuri.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Águas residuais - Purificação. 2. Lagoas de estabilização.  
3. Biomassa. 4. Microalgas. 5. Biofilme. I. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Engenharia Civil. Programa de  
Pós-graduação em Engenharia Civil. II. Título.

CDD 22. ed. 628.351

LETÍCIA RODRIGUES DE ASSIS

**CULTIVO DE MICROALGAS EM ESGOTO DOMÉSTICO COM  
UTILIZAÇÃO DE SISTEMAS HÍBRIDOS: LAGOAS DE ALTA TAXA E  
BIORREATOR EM FILME**

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

APROVADA: 16 de fevereiro de 2016.

  
Alberto José Delgado dos Reis

  
Maria do Carmo Calijuri

  
Rejane Helena Ribeiro da Costa

  
Maria Lúcia Calijuri  
(Orientadora)

***Aos meus pais Márcio e Maria.  
À minha irmã Silmara.***

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me abençoado e capacitado para realização deste trabalho;

À minha família, especialmente meus pais Márcio e Maria e minha irmã Silmara, pelo incentivo, apoio, companheirismo e amor incondicional;

Ao Guilherme pelo apoio, motivação, carinho e por estar sempre presente.

À Professora Maria Lúcia Calijuri pela orientação, amizade, confiança e motivação no desenvolvimento desta pesquisa;

Aos membros da banca, Dr. Alberto José Delgado dos Reis, Professora Rejane Helena Ribeiro da Costa e Professora Maria do Carmo Calijuri por aceitarem o convite e pelas contribuições concedidas;

À Paula e ao Eduardo pela amizade, ajuda e pelas contribuições valiosas;

Aos amigos do nPA: Juliana, Mariana, Mauro, Fernanda, Sabrina, João Pedro, Raphael, Rafael, Karinne, Marília, Mateus, Vinicius e André, pela amizade e pelos momentos de descontração. Especialmente à Jackeline, Taynan e Luma pela ajuda, incentivo e pelo convívio carinhoso durante o período do mestrado;

Aos estagiários: Anaïs, Artur, Wanderléia, João Pedro, Michelle, Heider e Thainá pela ajuda com as análises laboratoriais;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Engenharia Civil, pela oportunidade concedida e pela formação acadêmica de qualidade;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

Ao Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) de Viçosa – MG, pela parceria e apoio;

Aos funcionários do Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental (LESA): Agostinho, Capelão, Carlos, Júlio e Priscila, pela ajuda e convívio;

Ao Sr. José Mário pela montagem e manutenção do experimento de campo;

Ao Professor André Cordeiro Alves dos Santos pela ajuda com a análise fitoplanctônica;

Ao José Maurício Lino, do Laboratório de Matéria Orgânica e Resíduos, pela ajuda com a preparação das amostras.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE EQUAÇÕES.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	IX
RESUMO.....	XI
ABSTRACT .....	XII
1. APRESENTAÇÃO .....	1
2. INTRODUÇÃO GERAL .....	2
3. HIPÓTESES .....	4
4. OBJETIVOS .....	5
4.1 Objetivo Geral.....	5
4.2 Objetivos Específicos.....	5
5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	6
5.1 Produção de microalgas em esgoto doméstico.....	6
5.2 Sistemas de cultivo .....	7
5.2.1 Lagoas de alta taxa.....	7
5.2.2 Fotobiorreatores .....	8
5.2.3 Sistemas híbridos .....	9
5.3 Formação de biofilme .....	9
5.4 Suplementação de CO <sub>2</sub> .....	15
5.4.1 CO <sub>2</sub> comercial.....	15
5.4.2 Emissões de escapes industriais .....	16
5.4.3 Controle do pH e remoção de nutrientes.....	18
5.5 Microalgas para a produção de biocombustíveis .....	19
5.6 Referências .....	21
6. CAPÍTULO I: INTEGRAÇÃO DE REATOR DE BIOFILME E LAGOA DE ALTA TAXA PARA CULTIVO DE MICROALGAS E TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO.....	28
6.1 Introdução.....	29
6.2 Material e Métodos .....	30
6.2.1 Área de estudo .....	30
6.2.2 Unidade experimental e operação .....	30
6.2.3 Produção de biomassa, tratamento de esgoto e condições ambientais .....	32
6.2.4 Caracterização do biofilme.....	33
6.2.5 Quantificação lipídica.....	34
6.2.6 Comunidade fitoplanctônica.....	35
6.3 Resultados e discussão .....	35
6.3.1 Condições ambientais.....	35
6.3.2 Tratamento de esgoto doméstico.....	38
6.3.3 Produtividades no sistema híbrido .....	40
6.3.4 Caracterização do biofilme e produtividade lipídica.....	44
6.3.5 Comunidade fitoplanctônica.....	48
6.4 Conclusão.....	49
6.5 Referências .....	50
7. CAPÍTULO II: OTIMIZAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS E REMOÇÃO DE POLUENTES EM SISTEMAS HÍBRIDOS.....	55
7.1 Introdução.....	56

7.2 Material e Métodos .....	57
7.2.1 Área de estudo .....	57
7.2.2 Unidade experimental e operação .....	57
7.2.3 Produção de biomassa, tratamento de esgoto e condições ambientais .....	59
7.2.4 Caracterização do biofilme.....	60
7.2.5 Quantificação lipídica.....	61
7.2.6 Comunidade fitoplanctônica.....	62
7.2.7 Consumo de CO <sub>2</sub> .....	62
7.3 Resultados e discussão .....	63
7.3.1 Condições ambientais.....	63
7.3.2 Remoção de poluentes do esgoto doméstico.....	66
7.3.3 Produtividade de biomassa.....	69
7.3.4 Caracterização do biofilme e produtividade lipídica.....	72
7.3.5 Comunidade fitoplanctônica.....	73
7.3.6 Consumo de CO <sub>2</sub> .....	77
7.4 Conclusão.....	79
7.5 Referências .....	79
8. CONCLUSÃO GERAL.....	85
9. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS.....	86
10. REFERÊNCIAS GERAIS.....	87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Reatores de biofilme algal integrados ao tratamento de efluentes.....	13
Tabela 5.2 – Lagoas de alta taxa adaptadas com reatores de crescimento de biofilme.....	14
Tabela 6.1 - Caracterização do afluente e do efluente à LAT em cada período de monitoramento (média e desvio padrão).....	39
Tabela 6.2 – Produtividades no sistema híbrido (média e desvio padrão).....	40
Tabela 6.3 – Desempenho de diferentes fotobiorreatores de biofilme algal aplicados ao cultivo de microalgas em esgoto doméstico e meio sintético em termos médios de produtividade total do biofilme ( $P_b$ ), conteúdo lipídico total ( $C_L$ ), produtividade lipídica ( $P_L$ ), carbono total (C), nitrogênio total (N) e fósforo total (P).....	46
Tabela 7.1 – Duração de cada ciclo de crescimento dos biofilmes.....	61
Tabela 7.2 – Caracterização dos afluentes e dos efluentes às LATs, em cada período de monitoramento (média e desvio padrão).....	67
Tabela 7.3 – Produtividade total e de clorofila <i>a</i> nos sistemas de cultivos (média e desvio padrão).....	69
Tabela 7.4 - Caracterização dos biofilmes (média e desvio padrão).....	72
Tabela 7.5 - Taxas de fixação de $CO_2$ ( $F_{CO_2}$ ), taxas de $CO_2$ fornecido aos sistemas de cultivo ( $q$ ) e eficiência de consumo de $CO_2$ ( $\eta$ ), para os dois períodos de monitoramento.....	78

## LISTA DE FIGURAS

Figura 5.1 – Desenvolvimento de um biofilme algal: a) condicionamento da superfície de crescimento; b) colonização; c) desenvolvimento do biofilme; d) biofilme maduro (Adaptado de SCHNURR e ALLEN, 2015).....	11
Figura 6.1 – (a) visão geral do sistema híbrido: lagoa de alta taxa (1), reator de crescimento de biofilme (2), recirculação do efluente (3), coluna de carbonatação (4), alimentação contínua de esgoto doméstico (5); (b) reator de crescimento de biofilme (26º dia de crescimento).....	31
Figura 6.2 – Comportamento diurno dos parâmetros (média de todos os dias de coleta): (a) PAR, (b) temperatura, (c) pH, (d) % de saturação de OD.....	36
Figura 6.3 – Produção de clorofila a na LAT e no biofilme: (a) período I, (b) período II.....	41
Figura 6.4 – Crescimento do biofilme: a) material suporte, b) biofilme no 42º dia de cultivo, c) biofilme residual da primeira raspagem.....	43
Figura 6.5 – Crescimento total na LAT e no biofilme: a) período I, b) período II.....	44
Figura 6.6 – Comunidades fitoplanctônicas na LAT (a) e no biofilme (b), durante os períodos I e II (abundância de indivíduos, %).....	48
Figura 6.7 – Crescimento de clorófitas filamentosas na LAT durante o período I (35º dia de cultivo).....	49
Figura 7.1 – Posicionamento dos três sistemas avaliados: (1) sistema híbrido 1 com suplementação de CO <sub>2</sub> ; (2) sistema híbrido 2; (3) LAT com suplementação de CO <sub>2</sub> .....	58
Figura 7.2 – Comportamento diurno (média de todos os dias de coleta): (a) radiação fotossinteticamente ativa (PAR) nos dois períodos; (b) temperatura das LATs no período I; (c) temperatura das LATs no período II; (d) oxigênio dissolvido (OD) no período I; (e) oxigênio dissolvido (OD) no período II; (f) pH no período I; (g) pH no período II.....	64
Figura 7.3 – Relações (%) entre clorofila a e SSV nos cultivos das LATs durante os períodos I (a) e II (b), e entre clorofila a e STV nos biofilmes durante os períodos I (c) e II (d).....	71
Figura 7.4 – Densidade média de organismos fitoplanctônicos por mL para cada meio de cultivo.....	74
Figura 7.5 – Biovolume total ( $\mu\text{m}^3 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) das LATs nos períodos I (a) e II (b) e dos biofilmes nos períodos I (c) e II (d).....	75
Figura 7.6 – Comunidades fitoplanctônicas nas LATs durante os períodos I (a) e II (b), e nos biofilmes, no período I (c) e no período II (d) (abundância de indivíduos, %).....	76

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 6.1 – Clorofila <i>a</i> .....	33
Equação 6.2 – Teor lipídico.....	35
Equação 7.1 – Clorofila <i>a</i> .....	60
Equação 7.2 – Teor lipídico .....	62
Equação 7.3 – Taxa de fixação de CO <sub>2</sub> .....	63
Equação 7.4 – Eficiência de consumo de CO <sub>2</sub> .....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Carbono (elemento)
CO	Monóxido de carbono
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COTs	Carbono orgânico total solúvel
CTs	Carbono total solúvel
C:N:P	Relação carbono, nitrogênio e fósforo
CxHy	Hidratos de carbono não queimados
DQOs	Demanda química de oxigênio solúvel
FBRs	Fotobiorreatores
HC	Hidrocarbonetos
HRP	Hight rate ponds
LATs	Lagoas de alta taxa
LESA	Laboratório de Engenharia Sanitária e Ambiental
MG	Minas Gerais
N	Nitrogênio (elemento)
NMP	Número mais provável
N-NH <sub>4</sub>	Nitrogênio amoniacal
N-NO <sub>3</sub>	Nitrogênio nitrato (ou simplesmente nitrato)
Norg	Nitrogênio orgânico
NO	Óxido nítrico
NO <sub>x</sub>	Óxidos de nitrogênio
NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrogênio
NT	Nitrogênio total
NTK	Nitrogênio total kjeldahl
O <sub>2</sub>	Oxigênio em sua forma molecular
OD	Oxigênio dissolvido
P	Fósforo (elemento)
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa (400-700 nm)
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
Ps	Fósforo solúvel
PVC	Policloreto de vinil
SAAE	Serviço Autônomo de Água e Esgoto

SO <sub>x</sub>	Óxidos de enxofre
SSF	Sólidos suspensos fixos
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
STV	Sólidos totais voláteis
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> – reator anaeróbio de manta de lodo
UFV	Universidade Federal de Viçosa
vvm	Volume de ar injetado por minuto dividido pelo volume do meio de cultivo

## RESUMO

ASSIS, Letícia Rodrigues de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Cultivo de microalgas em esgoto doméstico com utilização de sistemas híbridos: lagoas de alta taxa e biorreator em filme.** Orientadora: Maria Lúcia Calijuri.

O presente estudo teve como objetivo a avaliação do desempenho de sistemas híbridos na otimização do cultivo de biomassa e do tratamento de esgoto doméstico. Os sistemas híbridos se constituíram em lagoas de alta taxa (LATs) e reatores de crescimento de biofilme. Dois sistemas híbridos foram utilizados, sendo somente um com suplementação de CO<sub>2</sub> no meio de cultivo da LAT. Um terceiro sistema composto por uma LAT convencional com adição de CO<sub>2</sub> foi avaliado. No primeiro período de monitoramento foi realizada a suplementação de CO<sub>2</sub> sintético em cilindro de gás com 99% de pureza, enquanto no segundo período, emissões atmosféricas provenientes da combustão da gasolina comum foram utilizadas, em substituição ao CO<sub>2</sub> sintético. Os resultados mostraram que as espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus acutus* foram predominantes em todos os sistemas de cultivos. O ambiente dos biofilmes favoreceu o desenvolvimento de diferentes microrganismos fitoplanctônicos daqueles observados nas LATs. As produtividades de clorofila *a*, nos dois períodos de monitoramento, foram entre 0,120 – 0,207; 0,106 – 0,132; 0,128 – 0,251 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>, respectivamente, para os sistemas híbridos com e sem adição de CO<sub>2</sub> e para a LAT convencional com adição de CO<sub>2</sub>. As eficiências de remoções médias de demanda química de oxigênio solúvel, carbono orgânico solúvel, nitrogênio amoniacal e fósforo solúvel em todas as LATs foram, respectivamente, na faixa de 9 - 46%; 21 - 58%, 67 - 84% e 20 - 30%. A concentração média da biomassa nos biofilmes foi entre 82 a 182 Kg.m<sup>-3</sup>, em base seca. A pesquisa mostrou que o sistema híbrido foi um eficiente sistema de cultivo algal, tratamento de esgoto doméstico, e colheita de biomassa de forma fácil e simples.

## ABSTRACT

ASSIS, Letícia Rodrigues de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Microalgae cultivation in domestic sewage with use of hybrid systems: high rate ponds and film bioreactor.** Adviser: Maria Lúcia Calijuri.

The present study aimed to evaluate the performance of hybrid systems in the optimization of cultivation of biomass and the treatment of domestic sewage. The hybrid systems constituted in high rate ponds (HRP) and biofilm growth reactors. Two hybrid systems were evaluated, with only one with CO<sub>2</sub> supplementation. The third system was a HRP conventional with CO<sub>2</sub> addition. In the first monitoring period a synthetic CO<sub>2</sub> supplementation was made in gas cylinder with 99% purity, while in the second period, atmospheric emissions from the combustion of gasoline were used, replacing the synthetic CO<sub>2</sub>. The results showed that the species *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* were predominant in all cultivation systems. The biofilm environment favored the development of different phytoplankton microorganisms those observed in HRP. The chlorophyll-a productivity in the two monitoring periods were between 0,120 to 0,207; 0,106 to 0,132; 0,128 to 0,251 g.m<sup>-2</sup>.day<sup>-1</sup>, respectively, to hybrid systems with and without CO<sub>2</sub> addition and conventional LAT with CO<sub>2</sub> addition. Average soluble chemical oxygen demand, soluble organic carbon, ammonium nitrogen and soluble phosphorus in all systems were, respectively, 9 - 46%; 21 - 58%, 67 - 84% and 20 - 30%. Average concentration of biomass in biofilms was between 82-182 kg.m<sup>-3</sup>, dry weight. The research showed that the hybrid system was an efficient algal culture system, treatment of domestic sewage and easy and simple biomass harvest.

## **1. APRESENTAÇÃO**

O desenvolvimento de fontes alternativas de aproveitamento de resíduos é de grande relevância no cenário brasileiro e mundial. A produção de microalgas para fins energéticos, durante o tratamento de águas residuárias, se destaca nesse cenário. Entretanto, a colheita da biomassa ainda é um desafio. Portanto, essa pesquisa se baseou no aperfeiçoamento do cultivo suspenso em lagoas de alta taxa (LATs) com adaptação de reatores de crescimento de biofilme, caracterizando em um sistema híbrido de produção de biomassa e tratamento de esgoto doméstico.

O cultivo de biomassa em reatores híbridos, compostos de LATs e reatores de crescimento de biofilme, constitui um dos objetivos do projeto de pesquisa “Biotecnologia de microalgas para valorização de nutrientes e conservação da água e do solo”, concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, processo de n.º 403013/2013-5 da Chamada MCTI/CNPq/CT-Hidro N° 36/2013.

Este documento foi organizado, além da introdução geral e da conclusão geral, em uma revisão bibliográfica do tema e dois capítulos. O Capítulo I objetivou avaliar o potencial do reator de crescimento de biofilme comparativamente a lagoa de alta taxa, tendo o esgoto doméstico como meio de cultivo. No Capítulo II, dois sistemas híbridos, sendo somente um com suplementação de CO<sub>2</sub>, e uma LAT convencional com adição de CO<sub>2</sub>, foram avaliados quanto ao tratamento de esgoto doméstico e a produtividade de biomassa.

## 2. INTRODUÇÃO GERAL

A elevada taxa de crescimento populacional urbana gera diversos tipos de resíduos, que precisam de tratamento antes do descarte final. Um dos principais resíduos que representam um desafio no âmbito da sustentabilidade são as águas residuárias e os gases de efeito estufa, principalmente, o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (ARBIB et al., 2014).

As microalgas podem desempenhar um papel importante de remediação durante o tratamento de águas residuárias, como: a possibilidade de remover simultaneamente os nutrientes nitrogênio e fósforo; o efluente do tratamento é destinado aos corpos hídricos com maiores concentrações de oxigênio; produtos de alto valor podem ser extraídos da biomassa algal gerada, como proteína e lipídeos (ARBIB et al., 2014).

Ao passo que os gases de efeito estufa têm se acumulado na atmosfera, como resultado das atividades humanas e da industrialização, pesquisas por medidas mitigatórias têm investigado, dentre alternativas, as tecnologias de fixação de CO<sub>2</sub> por processos biológicos, por meio de organismos autotróficos. Nesse escopo, as microalgas e cianobactérias podem crescer mais rápidas e obter uma eficiência de conversão de CO<sub>2</sub> na faixa de 10 a 50 vezes mais elevadas, quando comparadas às plantas terrestres (LI et al., 2008).

Diante das vantagens inerentes à depuração de águas residuárias por microalgas e à capacidade de fixação biológica de CO<sub>2</sub>, a biomassa gerada pode ser transformada em diversos produtos, como biofertilizantes, suplemento de ração animal e a produção de biocombustíveis de terceira geração (BRENNAN e OWENDE, 2010; CHISTI, 2007). A conversão da biomassa algal em biocombustíveis tem sido considerada como uma potencial solução rentável para substituir o uso atual de combustíveis fósseis, uma vez que os combustíveis fósseis têm se tornado cada vez mais onerosos e escassos (LAM e LEE, 2012).

Entretanto, um dos maiores obstáculos para aproveitamento da biomassa algal é a sua colheita. O reduzido tamanho das células das microalgas, geralmente entre 3 a 30 µm, faz da colheita um processo oneroso para a produção de biocombustíveis, estimando que cerca de 20 a 30 % dos custos envolvidos sejam destinados a esta finalidade (MOLINA GRIMA et al., 2003).

O desenvolvimento de sistemas de cultura baseados na formação de biofilmes tem sido pesquisado como potencial alternativa na colheita da biomassa algal. As principais vantagens do cultivo de biofilmes são: elevada concentração, menor sensibilidade aos efeitos de toxicidade, eficiência na assimilação de nutrientes, rápida formação de biomassa e redução nos custos de separação da biomassa (JOHNSON e WEN, 2010; OZKAN et al., 2012; GROSS et al., 2013; ZAMALLOA et al., 2013; SCHNURR et al., 2013; LIU et al., 2013). O biofilme de algas associado ao tratamento de águas residuárias tem potencial para aumentar a produtividade algal e melhorar a eficiência do tratamento dos efluentes, entretanto, várias condições precisam ser otimizadas (HOH et al., 2016).

### **3. HIPÓTESES**

Microalgas podem ser cultivadas em sistemas híbridos, nas formas aderidas ao reator e suspensas na lagoa de alta taxa (LAT), utilizando esgoto doméstico como meio de cultivo.

O cultivo do biofilme no sistema híbrido sem adição de CO<sub>2</sub>, em contato direto com o ar atmosférico, proporcionará igual ou maior taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> pelas microalgas, em relação a uma LAT convencional que tenha suplementação de carbono.

Nos sistemas híbridos, a produção de microalgas e a remoção de poluentes serão maiores em relação a uma LAT convencional.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar o desempenho de sistemas híbridos, constituídos de lagoa de alta taxa e reator de crescimento de biofilme, na produção de microalgas e no tratamento de esgoto doméstico.

### **4.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar biológica, física e quimicamente o afluente e os efluentes às lagoas de alta taxa (LATs);
- Avaliar a remoção de poluentes e as produtividades em cada sistema de cultivo;
- Caracterizar o teor de umidade, a concentração da biomassa, teores de carbono, nitrogênio e fósforo, conteúdo lipídico total e a produtividade lipídica nos biofilmes;
- Determinar quanti e qualitativamente a comunidade fitoplanctônica dos sistemas de cultivo;
- Determinar a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> e a eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> em cada sistema de cultivo.

## 5. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 5.1 Produção de microalgas em esgoto doméstico

A produção de microalgas por meio do reuso do esgoto doméstico é considerada uma ótima oportunidade do ponto de vista ambiental e econômico de produção de biomassa a ser utilizada em diversos contextos. O esgoto doméstico contém carbono, nutrientes e água, que são assimilados pelas microalgas durante o crescimento. A posterior colheita da biomassa recupera os nutrientes do esgoto doméstico, finalizando o processo de tratamento desse efluente (GARCÍA et al., 2006; POWELL et al., 2009; PARK e CRAGGS, 2010; LI et al., 2011).

As interações entre os microrganismos são importantes para remoção de poluentes presentes no esgoto doméstico. Enquanto as bactérias oxidam a matéria orgânica e produzem gás carbônico, as microalgas produzem oxigênio e consomem gás carbônico durante a fotossíntese, além de assimilarem os nutrientes presentes no meio.

A eficiência de remoção de nutrientes a partir do cultivo de microalgas durante o tratamento de águas residuárias tem sido relatada na literatura. Martínez et al. (2000) cultivaram a microalga *Scenedesmus obliquus* em um fotobiorreator com volume de 1L e alcançaram efetiva remoção de fósforo (98%) e nitrogênio amoniacal (100%), com tempos de detenção hidráulica de 94 e 183 horas, respectivamente. Também com o cultivo de *Scenedesmus obliquus*, Gomes Villa et al. (2005) cultivaram as microalgas em um recipiente cilíndrico de 0,2 m<sup>3</sup> de volume útil e área superficial de 0,75 m<sup>2</sup>. O meio de cultivo utilizado foi água residuária artificial. Os resultados obtidos das remoções de nitrogênio e fósforo foram 47% e 45%, respectivamente, no inverno, e 79% e 73% no verão. Wei et al. (2008), utilizaram água residuária artificial e obtiveram redução na concentração de fósforo total de 98%, enquanto a redução de nitrogênio total foi de 87%, com produção de microalgas em sistemas de crescimento aderido.

Outras pesquisas apresentaram resultados referentes à produção de biomassa mediante o tratamento de águas residuárias. Para sistemas de lagoas de alta taxa (LATs) e fotobiorreatores (FBRs) tubulares, a produção variou de 10 a 45 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup> (GONZÁLEZ et al., 2008; LUNDQUIST et al.,

2010). Para sistemas de crescimento aderido, a produção esteve na faixa de 2,2 a 9,4 g.m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup> (KEBEDE-WESTHEAD et al., 2006; GUZZON et al., 2008; JOHNSON e WEN, 2010; SHI et al., 2014).

Park et al. (2011) afirmaram que a produção de microalgas em esgoto doméstico representa redução dos custos envolvidos na produção de biocombustíveis. Além disso, as diferentes formas de se obter bioenergia, como a extração de lipídeos para o biodiesel, a fermentação de carboidratos para o bioetanol e a digestão anaeróbia para o biogás, fazem com que o processo seja sustentável desde o cultivo das microalgas até o produto final.

Para responder satisfatoriamente à produção de biodiesel, Li et al. (2011) afirmaram que as microalgas devem atender alguns requisitos para que o cultivo em esgoto doméstico seja justificado, sendo eles, a capacidade de sobrevivência nesse meio de cultivo e de desenvolvimento em consórcio de microrganismos, além do teor de lipídeos em suas constituições.

Sendo assim, é importante que as pesquisas que envolvem produção de microalgas em esgoto doméstico tenham continuidade, a fim de otimizar o processo de produção e atingir padrões requeridos para lançamento desses efluentes nos corpos d'água, de acordo com as legislações vigentes.

## **5.2 Sistemas de cultivo**

O cultivo de microalgas pode ser realizado em reatores abertos, fechados ou híbridos. Os reatores abertos, como as lagoas de alta taxa, geralmente possuem menores demandas energéticas e de custos e são instaladas, principalmente, em áreas extensas, com elevada disponibilidade de radiação solar. Os reatores fechados, comumente denominados fotobiorreatores, são projetados para superar algumas limitações relacionadas às LATs e potencializar a produtividade. Os reatores híbridos empregam características dos sistemas fechados e abertos e/ou dos meios de cultivos suspensos e aderidos.

### *5.2.1 Lagoas de alta taxa*

A produção de microalgas por meio do reuso do esgoto doméstico é realizada, principalmente, em lagoas de alta taxa (LATs), também conhecidas

como *raceways* que são, ao mesmo tempo, usadas para o tratamento desse efluente. Esses reatores são projetados para promoverem interação ecológica entre algas e bactérias (GARCÍA et al., 2006; POWELL et al., 2009).

Com a profundidade variando entre 0,2 a 1,0 m, as LATs possuem uma estrutura de pás giratórias, que misturam de forma contínua o efluente no interior da lagoa e conferem velocidade horizontal na faixa de 0,1 a 0,3 m.s<sup>-1</sup> (CRAGGS, 2005). O revolvimento do meio líquido evita a estratificação térmica e permite que as células mantenham contato com a radiação solar de forma homogeneizada (KETHEESAN e NIRMALAKHANDA, 2011; SUTHERLAND et al., 2014).

As LATs se apresentam economicamente viável para a produção de biomassa algal em grande escala. Possuem menores impactos ambientais em termos de pegada hídrica, uso de energia e fertilizantes, pois os custos relativos à produção, operação, manutenção e colheita são, praticamente, cobertos pelos investimentos das estações de tratamento de efluentes (RODOLFI et al., 2009; UGWU et al., 2008; BRENNAN e OWENDE, 2010; PARK et al., 2011).

Entretanto, algumas limitações das LATs podem comprometer a eficiência de produtividade de biomassa algal: perdas por evaporação, flutuação da temperatura, mistura ineficiente, limitação de luz e deficiências de CO<sub>2</sub> (CHISTI, 2007; GROBBELAAR, 2009; BRENNAN e OWENDE, 2010).

### 5.2.2 Fotobiorreatores

Algumas limitações relatadas na utilização de LATs para cultivo de microalgas são superadas com o uso de fotobiorreatores (FBRs), como o cultivo prolongado de espécies mais sensíveis, perdas reduzidas de CO<sub>2</sub>, controle da temperatura, além de diversos *designs* técnicos flexíveis que demandam menor área (PULZ, 1992).

Os materiais usualmente utilizados para a confecção dos FBRs incluem vidro, acrílico, polivinilcloreto (PVC) e polietileno (ARBIB et al., 2013). Os *designs* e configurações mais comuns são dos FBRs tubulares, de colunas e em placas (ERIKSEN, 2008). Em geral, os FBRs são construídos de maneira que a exposição da cultura à luz seja maximizada e que possua maior controle das condições de cultivo. A escolha ou adaptação do FBR mais adequado

depende das espécies de interesse e o uso previsto da biomassa gerada, como a produção de bioenergia ou biofertilizantes (ZHU et al., 2013).

As principais restrições da produção algal em FBRs estão relacionadas aos custos operacionais e a elevada demanda energética, a possibilidade de ocorrência do *biofouling*, superaquecimento e *stress* hidrodinâmico de culturas. Sendo assim, os FBRs são usualmente aplicados para manter a produção de inóculo para reatores abertos de escala maior ou para a obtenção de produtos de alto valor agregado, a partir de cultivos puros de biomassa (SIERRA et al., 2008; BAHADAR e KHAN, 2013).

### 5.2.3 Sistemas híbridos

Os sistemas híbridos combinam reatores fechados (FBRs) e abertos (LATs) e/ou reatores de cultivos suspensos e aderidos. Esses sistemas visam conciliar as vantagens e minimizar as limitações inerentes à produção de microalgas.

A operação dos sistemas híbridos ocorre, usualmente, em duas etapas, para sistemas fechados e abertos. Sendo a primeira etapa realizada em FBRs sob condições ótimas e controláveis de cultivo, e a segunda operada em LATs, normalmente sob condições de *stress* (limitação de nutrientes e altas radiações). A operação em duas etapas tem garantido bons resultados de produtividades de biomassa e de conteúdo lipídico (HUNTLEY e REDALJE, 2007; RODOLFI et al., 2009).

Os reatores híbridos de cultivos suspensos e aderidos são operados concomitantemente. Os FBRs adaptados com membranas ou placas planas (HONDA et al., 2012; RUIZ-MARTINEZ et al., 2012; SIGH et al., 2012; ZAMALLOA et al., 2013) são exemplos de reatores híbridos mais comuns. Estudos que adaptaram crescimento aderido em LATs ainda são poucos, mas com resultados promissores (CHRISTENSON e SIMS, 2012; GROSS et al., 2013; LEE et al., 2014).

## 5.3 Formação de biofilme

Durante o tratamento biológico, existem dois tipos de crescimento e sustentação da biomassa, a saber: crescimento disperso e crescimento

aderido. No crescimento disperso, não existe estrutura de sustentação e a biomassa se desenvolve de forma dispersa no meio líquido. Enquanto no crescimento aderido, existe um meio suporte capaz de sustentar a biomassa, formando biofilme. O meio suporte pode ser natural, artificial ou constituído pela própria biomassa aglomerada e pode também estar imerso no meio líquido quanto receber descargas contínuas ou intermitentes de líquido (VON SPERLING, 2011).

Os biofilmes fotossintéticos são referidos como biofilmes perifíticos ou algais, que são compostos principalmente por algas, cianobactérias e bactérias heterotróficas que vivem em simbiose. A composição e estrutura dos biofilmes fotossintéticos variam de acordo com fatores bióticos e abióticos dentro do ambiente (SCHNURR e ALLEN, 2015).

O desenvolvimento de um biofilme fotossintético ocorre, primeiramente, com a fixação de bactérias, que excretam substâncias poliméricas extracelulares (EPS), responsáveis por modificarem o substrato e condicionarem a superfície para o crescimento de outros microrganismos (BARRANGUET et al., 2004; ZIPPEL e NEU, 2005). Após o estabelecimento da matriz EPS, as células das algas começam crescer rapidamente. A matriz do biofilme facilita a retenção e a partilha de nutrientes, uma vez que existem relações simbióticas entre os microrganismos heterotróficos e autotróficos. Quando o biofilme se encontra maduro, há maior diversidade de microrganismos, particularmente cianobactérias e clorofíceas (MACK e ANDERSON, 1975; SCHNURR e ALLEN, 2015). A Figura 5.1 apresenta o desenvolvimento de um biofilme algal.

Sistemas de crescimento aderido e formação de biofilme para cultivo de microalgas têm sido relatados na literatura, apresentando como as principais vantagens: elevada concentração, menor sensibilidade aos efeitos de toxicidade, eficiência na assimilação de nutrientes, rápida formação de biomassa e redução nos custos de separação da biomassa (JOHNSON e WEN, 2010; OZKAN et al., 2012; GROSS et al., 2013; ZAMALLOA et al., 2013; SCHNURR et al., 2013; LIU et al., 2013).

A colheita das microalgas em grandes volumes de água dos sistemas de cultura em suspensão é um grande desafio, devido ao pequeno tamanho (entre 0,3 - 5  $\mu\text{m}$ ) e a baixa densidade (2 – 40  $\mu\text{m}^3$ ) das células (LI et al., 2008). Para efetiva colheita dessa biomassa, fazem-se necessárias separações sólido-

líquidos em mais de uma etapa física, como em tanques de sedimentação e centrífugas, tornando as operações de separação onerosas e demoradas (LI et al., 2008; WANG et al., 2008; BRENNAN e OWENDE, 2010).

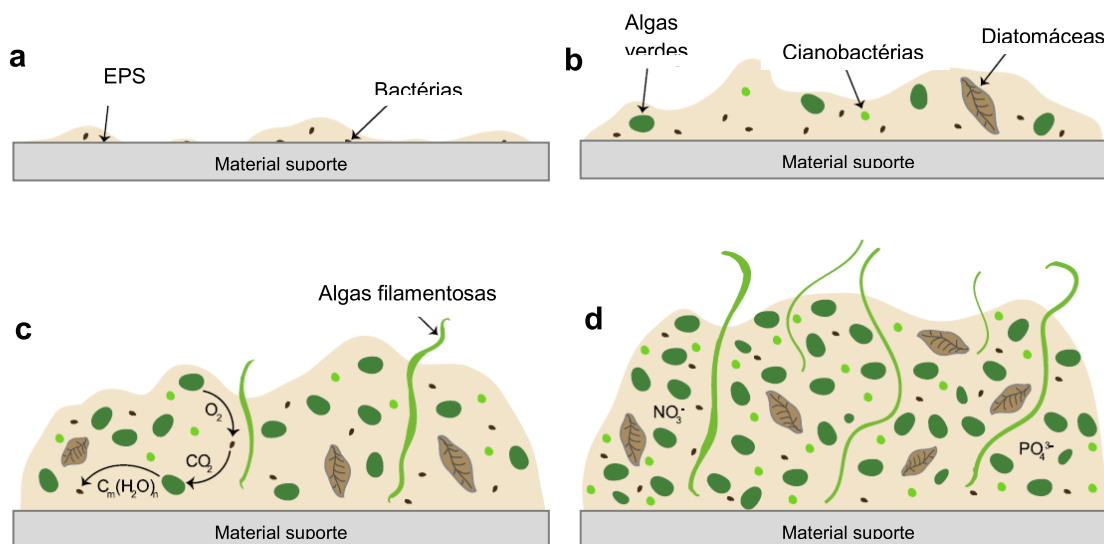


Figura 5.1 – Desenvolvimento de um biofilme algal: a) condicionamento da superfície de crescimento; b) colonização; c) desenvolvimento do biofilme; d) biofilme maduro (Adaptado de SCHNURR e ALLEN, 2015).

É estimado que os custos de coleta e desidratação de biomassa algal contribua com até 30% do custo total de produção da biomassa (GUDIN e THERPENIER, 1986), e que em uma LAT, os custos relativos à colheita da biomassa são cerca de 21% (DAVIS et al., 2011).

Nesse sentido, há um enorme interesse no desenvolvimento de sistemas de cultura baseados na formação de biofilmes, em que a biomassa cresça aderida a um material de apoio e possa ser facilmente coletada (GROSS et al., 2013).

Na Tabela 5.1 estão apresentados alguns trabalhos que integraram diferentes reatores de biofilmes a tratamentos de diversos tipos de efluentes.

Estudos que conciliam formação de biofilmes em LATs, por meio do reuso do esgoto doméstico como meio de cultivo, ainda são escassos. As LATs não devem ser consideradas como um sistema completo de tratamento de efluentes, e sim, serem inseridas em uma combinação de processos para tratamento de efluentes e aproveitamento de biomassa algal (GARCÍA et al., 2006). A adaptação de reatores de crescimento aderido em LATs tem grande

potencial de otimizar esses sistemas de cultivos que, são mais antigos e ainda apresentam limitações.

Christenson e Sims (2012), Gross et al. (2013) e Lee et al. (2014) são exemplos de autores que adaptaram LATs com o cultivo de biofilme algal. A Tabela 5.2 apresenta as principais características estudadas por esses autores.

Tabela 5.1 – Reatores de biofilme algal integrados ao tratamento de efluentes.

Efluentes	Tipo de reator de biofilme	Espécies de microalgas	Produtividade da biomassa (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	Referências
	Rotativo	Culturas mistas	31	Christenson e Sims (2012)
	Horizontal	Consórcio de microrganismos	0,5 – 3,1	Posadas et al. (2013)
Esgoto doméstico	Fluxo de pista	Culturas mistas	2,9	Guzzon et al. (2008)
	Vertical	<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus rubescens</i>	1,32	Shi et al. (2007)
	Camada dupla	<i>Halochlorella rubescens</i>	6,3	Shi et al. (2014)
Laticínios	Espuma de poliestireno	<i>Chlorella sp.</i>	2,57	Johnson e Wen (2010)
Esterco	Algal Turf Scrubber (ATS)	Consórcio de microrganismos	2,5 - 25	Mulbry et al. (2008)
Suinocultura	Algal Turf Scrubber (ATS)	Consórcio de microrganismos	7,1 – 9,4	Kebede-Westhead et al. (2006)

Tabela 5.2 – Lagoas de alta taxa adaptadas com reatores de crescimento de biofilme.

Material suporte do reator de biofilme	Área superficial da LAT (m <sup>2</sup> )	Dimensões do reator de biofilme	Meio de cultivo	Espécies de microalgas	Produtividade e por área (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	Referências
Corda de algodão	3	4,3 m <sup>2</sup>	Esgoto doméstico	Culturas mistas	5,5 – 31	Christenson e Sims (2012)
Superfície rotativa de algodão	24	3,5 m <sup>2</sup>	Meio sintético	<i>Chlorella vulgaris</i>	8,1 – 14,1	Gross et al. (2013)
Malhas de nylon	20,6	33,1 m <sup>2</sup>	Esgoto doméstico	<i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Pediastrum</i> , <i>Nitzschia</i> , <i>Cosmarium</i> e microalgas filamentosas	9,1 – 13,5	Lee et al. (2014)

## 5.4 Suplementação de CO<sub>2</sub>

A deficiência de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) durante o tratamento de esgoto doméstico pode ser justificado por dois motivos. Primeiramente, pela baixa concentração de CO<sub>2</sub> dissolvido nesse efluente e, pela baixa taxa de transferência do CO<sub>2</sub> atmosférico (UGWU et al., 2008; PARK et al., 2011). Mesmo existindo uma relação simbiótica entre as microalgas e bactérias heterotróficas, em situações de abundância de nutrientes e radiação solar, as concentrações de CO<sub>2</sub> podem ser reduzidas frente à necessidade da biomassa algal.

A demanda de CO<sub>2</sub> capaz de atender efetivamente a produtividade de biomassa algal pode ser otimizada com adição de carbono no meio de cultivo. A captura de CO<sub>2</sub> do ar atmosférico seria o método mais simples de sumidouro desse gás, consistindo apenas na transferência de massa do ar para o meio de cultivo das microalgas (WANG et al., 2008). Porém, a atmosfera contém baixa concentração de CO<sub>2</sub> (380 ppmv, cerca de 0,03%), e dependendo da produção algal a ser considerada, esse processo torna-se economicamente inviável (MCGIN et al., 2011).

As práticas que têm demonstrado eficiência, do ponto de vista financeiro, da suplementação de CO<sub>2</sub> aos meios de cultivos algal são as aplicações de ar enriquecido com CO<sub>2</sub> puro e a utilização de emissões de escapes industriais.

### 5.4.1 CO<sub>2</sub> comercial

A mistura de ar atmosférico com CO<sub>2</sub> puro comercial tem se tornando uma prática comum de cultivo algal. Park e Craggs (2011) avaliaram duas LATs em escala piloto durante o tratamento de águas residuárias domésticas, sendo uma LAT convencional e outra com adição de CO<sub>2</sub> puro. Os resultados indicaram que a proporção de algas em relação à biomassa algal/bacteriana na LAT com adição de CO<sub>2</sub> e tempo de detenção hidráulico (TDH) de 4 dias (80,5%) foi mais elevada do que na LAT convencional (55,6%), com TDH de 8 dias. Além disso, foi notada menor volatilização de nitrogênio, devido ao controle do pH, e a ocorrência de nitrificação, somente na LAT com adição de CO<sub>2</sub>.

Kaewkannetra et al. (2012) avaliaram o aumento da salinidade e da concentração de CO<sub>2</sub> no crescimento da microalga *Scenedesmus obliquus* em um FBR tubular vertical com 2L de volume do meio de cultivo e aeração a 600 mL.min<sup>-1</sup>. Primeiramente foi avaliada a aeração do sistema com ar atmosférico e, posteriormente, com o ar enriquecido com 5 e 15% de CO<sub>2</sub> puro, em um período de 15 dias para cada concentração de CO<sub>2</sub>. Os resultados demonstraram aumento da concentração da biomassa de 1,5 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> (ar atmosférico) para 2,3 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> (15% CO<sub>2</sub>). O aumento da concentração acima de 15% de CO<sub>2</sub> ocasionou decaimento da produção algal. Segundo os autores, isso ocorreu porque a concentração de CO<sub>2</sub> presente no meio de cultivo, que não foi consumido pela microalgas, converteu-se em H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, reduziu o pH do meio que, por sua vez, afetou o crescimento algal. Por outro lado, quando o nível de CO<sub>2</sub> é muito baixo o crescimento de algas foi inibido pela baixa fonte de teor de carbono (KAEWKANNETRA et al.,2012).

#### 5.4.2 Emissões de escapes industriais

A adição de CO<sub>2</sub> puro ou de ar enriquecido com CO<sub>2</sub> puro possui custos elevados que podem dificultar economicamente a produção. A adição de emissões de escapes industriais tem sido pesquisada como alternativa de suprir a falta de CO<sub>2</sub> para produção de microalgas durante o tratamento de esgotos. O consumo desses gases pelas microalgas se constitui em uma simples mitigação biológica, que atende o conceito de sustentabilidade.

Morais e Costa (2008) verificaram a capacidade de remoção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e óxido de nítrico (NO) por microalgas *Spirulina sp.* e *Scenedesmus obliquus* cultivadas em FBRs do tipo erlenmeyer com 1,8 L de volume útil e com aeração de ar comprimido contendo 6% de CO<sub>2</sub> (v/v) e 100 ppm de NO (v/v) de um cilindro industrial. As maiores taxas de remoção de CO<sub>2</sub> (22,97%) e NO (27,13%) foram obtidas com a microalga *Scenedesmus obliquus*. A produtividade máxima de ambas as espécies foi de 0,06 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>. Os autores concluíram que o cultivo de microalgas aliado a remoção de CO<sub>2</sub> e NO contribuiriam com a redução dos custos com nutrientes do meio de cultivo e com problemas gerados com a emissão desses gases (MORAIS e COSTA, 2008).

Chiu et al. (2011) avaliaram o cultivo da microalga *Chlorella sp.* em reatores de 800 mL, com iluminação contínua e aeração controlada (0,05 vvm). Foram comparados os cultivos com suplementação de gás de combustão proveniente do forno de coque de uma indústria siderúrgica (25% CO<sub>2</sub>; 4% O<sub>2</sub>; 80 ppm NO; 90 ppm SO<sub>2</sub>) e com adição de ar atmosférico enriquecido com CO<sub>2</sub> puro a diferentes concentrações (2%, 10% e 25% v/v). A taxa média de crescimento microalgal na cultura com suplementação do gás de combustão (0,37 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>) foi maior do que das culturas com adição de ar enriquecido com CO<sub>2</sub> a 2% (0,25 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>), 10% (0,15 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>) e 25% (0,19 g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>). Os autores também avaliaram o crescimento algal da *Chlorella sp.* em um FBR instalado ao lado da chaminé de uma indústria siderúrgica. Os gases provenientes da combustão foram inseridos nas culturas por aeração contínua e intermitente. As taxas de crescimento das culturas com aeração intermitente foram 2,3; 3,1; 2,6 e 5,2 vezes maiores do que as culturas aeradas de forma contínua, quando as concentrações de biomassa inicial foram, respectivamente, 0,5; 0,75; 1,0 e 1,25 g.L<sup>-1</sup>. As remoções dos gases CO<sub>2</sub>, NO e SO<sub>2</sub> foram consideradas eficientes e o cultivo da microalga *Chlorella sp.* pode ser utilizado como biodepurador desses gases de combustão. Além disso, os autores concluíram que a implantação de um sistema de produção de biomassa algal é uma medida prática de aproveitamento direto dos gases de uma indústria de aço (CHIU et al., 2011).

Outro exemplo de reuso de gases para produção algal é o estudo de Douskova et al. (2009), que avaliaram o crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em FBR do tipo coluna de bolhas, com 300 mL de volume útil, vazão de aeração 15 L.h<sup>-1</sup> e iluminação contínua. Os gases, provenientes de uma usina de incineração de lixo, foram adicionados às culturas e comparados com a adição de ar atmosférico misturado com CO<sub>2</sub> puro 11% v/v. As concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> no gás de entrada foram medidos continuamente. E a velocidade de fluxo dos gases em cada coluna foi de 15 L.h<sup>-1</sup>. As taxas de crescimento de biomassa algal (2,5 g peso seco.L<sup>-1</sup>.24h<sup>-1</sup>), bem como a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> (4,4 gCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.24h<sup>-1</sup>), obtidas no meio em que ocorreu adição do gás da usina de incineração de lixo foram maiores do que as taxas de crescimento de biomassa algal (1,7 g.L<sup>-1</sup>.24h<sup>-1</sup>) e fixação de CO<sub>2</sub> (3,0 gCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.24h<sup>-1</sup>) obtidas da adição do ar atmosférico misturado com CO<sub>2</sub> puro até concentração de 11%

v/v. Os autores sugeriram que o crescimento foi maior com gás de escape devido a uma concentração de O<sub>2</sub> (8 – 10% O<sub>2</sub> v/v) inferior à existente no ar enriquecido com 11% de CO<sub>2</sub> (19% O<sub>2</sub> v/v) (DOUSKOVA et al., 2009).

É importante salientar que as emissões de escapes industriais contêm diversos compostos químicos que, mesmo quando tratados e as concentrações são menores, podem afetar o crescimento e a composição bioquímica das microalgas (VAN DEN HENDE et al., 2012). Além de CO<sub>2</sub>, cerca de 142 compostos diferentes (SIMONEIT et al., 2001) compõem os gases de combustão, como água (H<sub>2</sub>O), oxigênio (O<sub>2</sub>), nitrogênio (N<sub>2</sub>), óxidos de nitrogênio (NO<sub>x</sub>), óxidos de enxofre (SO<sub>x</sub>), hidratos de carbono não queimados (C<sub>x</sub>H<sub>y</sub>), monóxido de carbono (CO), metais pesados, ácidos halogenados e partículas (PM). Ainda são poucos explorados na literatura estudos que relatam a adição de gases de escapes industriais aos cultivos de microalgas e reportam as interações desses microrganismos com o CO<sub>2</sub> e demais compostos constituintes (VAN DEN HENDE et al., 2012). Portanto, o desenvolvimento de pesquisas que investiguem fontes econômicas de CO<sub>2</sub> e as interações de tais fontes com o processo biológico de tratamento de efluentes e cultivo algal são importantes.

#### *5.4.3 Controle do pH e remoção de nutrientes*

Um aspecto relevante da suplementação de CO<sub>2</sub> nos meios de cultivo algal, durante o tratamento biológico de efluentes, é o controle de pH e a remoção de nutrientes. A suplementação de CO<sub>2</sub>, por possibilitar o controle do pH da LAT, minimiza a remoção de nutrientes por processos físico-químicos dependentes do pH (PARK e CRAGGS, 2010). Em valores de pH elevados, geralmente maiores do que 8,5, são favorecidas a volatilização do nitrogênio amoniacal e a precipitação química do fósforo. Dessa forma, a assimilação de nutrientes pela biomassa algal é reduzida. É importante salientar que a adição de CO<sub>2</sub> deve ser dimensionada de acordo com as características do meio de cultivo a fim de evitar desperdício de gás e redução na eficiência do tratamento.

García et al. (2006) avaliaram o tratamento de efluente doméstico em LATs e tiveram a volatilização como o principal mecanismo de remoção de nitrogênio amoniacal. A não adição de CO<sub>2</sub> na LAT ajudou a explicar o

resultado encontrado. Park e Craggs (2011) avaliaram o efeito da adição de CO<sub>2</sub> na remoção de nutrientes em LATs que receberam efluente anaeróbio e observaram menor perda de nitrogênio. O resultado, já esperado, foi atribuído a não elevação do pH e a conseqüente menor volatilização do nitrogênio amoniacal.

Heubeck et al. (2007) avaliaram o efeito da adição de CO<sub>2</sub> no tratamento de efluentes em LATs. Em relação à remoção de nitrogênio amoniacal e fósforo, os autores observaram que quando o meio de cultivo foi limitado de carbono, o pH também se elevou pouco, não sendo suficiente para promover os processos de remoção de nutrientes (volatilização do nitrogênio amoniacal e precipitação química do fósforo). Nesse cenário, a adição de CO<sub>2</sub> acarretou em aumento na eficiência de remoção de nutrientes por assimilação pela biomassa e aumento na produção algal. No entanto, quando o meio de cultivo foi fortemente limitado de carbono, a remoção de nutrientes relativa à assimilação pela biomassa, após a adição de CO<sub>2</sub>, foi menor àquela obtida por processos dependentes de elevados valores de pH antes da adição do gás (HEUBECK et al., 2007).

De Godos et al. (2010) avaliaram a influência da adição de emissões provenientes da combustão de gás natural, advindo dos motores de secagem de esterco, no desempenho de duas LATs para a produção de biomassa, tendo efluente de suinocultura como meio de cultivo. As LATs possuíam 465 L de volume e TDH igual a 10 dias. Os resultados indicaram melhoria na produtividade microalgal e na eficiência do tratamento do efluente, modificando os mecanismos de remoção de nitrogênio amoniacal, que passou a ser assimilado pela biomassa algal (DE GODOS et al., 2010).

## **5.5 Microalgas para a produção de biocombustíveis**

Atualmente, a biomassa cultivada em águas residuárias pode ser aproveitada a partir do desenvolvimento e aprimoramento dos processos tecnológicos para fins energéticos. As microalgas são atraentes devido ao potencial lipídico, a taxa fotossintética, a produtividade de biomassa, a taxa de crescimento em relação a outras espécies vegetais, a possibilidade de cultivo ao longo de todo o ano, a capacidade de crescerem em áreas impróprias para

a agricultura e a habilidade de se desenvolverem em diferentes climas (SAVAGE e HESTEKIN, 2013).

As microalgas são constituídas por lipídeos, carboidratos, proteínas e moléculas orgânicas complexas, que podem ser convertidas em biocombustíveis ou utilizadas na produção de compostos altamente valorados como cosméticos, fármacos e suplementos alimentícios (ZHU, 2015).

Os métodos para a produção de biocombustíveis podem ser físicos, químicos, termoquímicos e bioquímicos. As técnicas físicas e/ou químicas incluem a transesterificação de óleo para produção de biodiesel (RAWAT et al., 2011; PRAGYA et al., 2013). No processo termoquímico, a biomassa é decomposta termicamente em biocombustíveis através de técnicas como a combustão direta, pirólise, liquefação hidrotérmica e gaseificação. Enquanto as técnicas de conversão bioquímica incluem a fermentação alcoólica, digestão anaeróbia e produção fotobiológica de hidrogênio (PRAGYA et al., 2013).

O teor de lipídeos encontrado nas microalgas é cerca de 50 a 60% de seu peso seco. Esse teor é considerado maior do que de outras culturas energéticas (HARUN et al., 2011; UGGETTI et al., 2014). As limitações quanto à extração do conteúdo lipídico das células de microalgas dificultam o seu aproveitamento energético. Métodos como a extração com fluido pressurizado, a extração líquido-líquido (extração via solventes), extração com fluido supercrítico e a extração assistida por ultrassom (HARUN et al., 2011; FRANCO et al., 2013; UGGETTI et al., 2014) vêm sendo estudados. Entretanto, os custos associados ainda são muito elevados, principalmente, quando se considera produção em escala real.

Os resíduos provenientes do processamento de extração de lipídeos podem ser reaproveitados e convertidos em demais biocombustíveis, pois são ricos em carboidratos e proteínas, que podem aumentar a produtividade energética total e é fundamental para manter ambos os aspectos energéticos e econômicos em equilíbrio (PRAGYA et al., 2013; ZHU et al., 2014). A produção de bioetanol é um exemplo. Os carboidratos residuais da extração de lipídeos da biomassa algal podem ser hidrolisados e fermentados para a produção de bioetanol (ZHU et al., 2014).

Outro exemplo é a geração de biogás, através da digestão anaeróbia com resíduos da extração de lipídeos. Entretanto, devido ao elevado teor de

nitrogênio na biomassa algal, a digestão anaeróbia pode ser inibida pela liberação de amônia, que é tóxica para vários grupos de bactérias. Essa questão pode ser solucionada através do pré-tratamento ou co-digestão com outro substrato com baixo teor de nitrogênio (CRAGGS et al., 2011), por exemplo, a co-digestão com lodo de tratamento primário de efluentes e resíduos de papel (YEN e BRUNE, 2007; KUMAR et al., 2010).

Após a produção dos biocombustíveis, os nutrientes presentes na biomassa processada podem ainda serem utilizados no cultivo de microalgas ou destinados à produção de condicionantes ou fertilizantes de solo. Analogamente, a água e o CO<sub>2</sub> produzidos nesses processos podem ser utilizados nos sistemas de cultivo de microalgas (ZHU et al., 2014).

A integração dos processos de produção de biocombustíveis de microalgas e o reaproveitamento dos resíduos gerados da produção inserem-se no conceito de biorrefinaria.

## 5.6 Referências

ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DIAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. **Ecological Engineering**, v. 52, p. 143-153, 2013.

BAHADAR, A.; KHAN, M. B. Progress in energy from microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy**, v. 27, p. 128–148, 2013.

BARRANGUET, C.; VAN BEUSEKOM, S.; VEUGER, B.; NEU, T.R.; MANDERS, E.M.M.; SINKE, J. J.; ADMIRAAL, W. Studying undisturbed autotrophic biofilms: still a technical challenge. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 34, p. 1-9, 2004.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extraions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557–577, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n.3, p. 294 – 306, 2007.

CHIU, S. Y.; KAO C. Y.; HUANG, T. T.; LIN, C. J.; ONG, S. C.; CHEN, C. D.; CHANG, J. S.; LIN, C. S. Microalgal biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella* sp. cultures. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9135-

9142, 2011.

CHRISTENSON, L. B.; SIMS, R. C. Rotating Algal Biofilm Reactor and Spool Harvester for Wastewater Treatment with Biofuels By-Products. **Biotechnology and Bioengineering**, 2012.

CRAGGS, R. J. Advanced integrated wastewater ponds. In: Shilton, A. (Ed.), Pond Treatment Technology, IWA Scientific and Technical Report Series, IWA, London, UK, p. 282–310, 2005.

CRAGGS, R. J.; HEUBECK, S.; LUNDQUIST, T.J.; BENEMANN, J.R. Algae biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Science and Technology**, v. 63, p. 660 – 665, 2011.

DAVIS, R.; ADEN, A.; PIENKOS, P. Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. **Applied Energy**, v. 88, p. 3524–3531, 2011.

DE GODOS, I.; BLANCO, S.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. Influence of flue gas sparging on the performance of high rate algae ponds treating agro-industrial wastewaters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, p. 1049 - 1054, 2010.

DOUSKOVA, I.; DOUCHA, J.; LIVANSKY, K.; MACHAT, J.; NOVAK, P.; UMYSOVA, D.; ZACHLEDER, V.; VITOVA, M. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, p. 179-185, 2009.

ERIKSEN, N. The technology of microalgal culturing. **Biotechnology Letters**, v. 30, p. 1525 – 1536, 2008.

FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; DA CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; DE ALMEIDA NETO, J. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, 36, n. 3, p. 437 – 448, 2013.

GARCÍA, J.; GREEN, B. F.; LUNDQUIST, T.; MUJERIEGO, R.; HERNÁNDEZ-MARINÉ, M.; OSWALD, W. J. Long term diurnal variations in contaminant removal in high rate ponds treating urban wastewater. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 1709 – 1715, 2006.

GOMES VILLA, H.; VOLTOLINA, D.; NIEVES, M.; PIÑA, P. Biomass production and nutrient budget in outdoor cultures of *Scenedesmus obliquus* (chlorophyceae) in artificial wastewater, under the winter and summer conditions of Mazatlán, Sinaloa, Mexico. **Vie et milieu**, v. 55, p. 121 – 126, 2005.

GONZÁLEZ, C.; MARCINIAK, J.; VILLAVERDE, S.; LÉON, C.; GARCÍA, P. A.; MUÑOZ, R. Efficient nutrient removal from swine manure in a tubular biofilm photo-bioreactor using algae – bacteria consortia. **Water Science and Technology**, v. 58, p. 95 – 102, 2008.

GROBBELAAR, J. U. Factors governing algal growth in photobioreactors: the “open” versus “closed” debate. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n.5, p.

489 - 492, 2009.

GROSS, M.; HENRY, W.; MICHAEL, C.; WEN, Z. Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 150, p.195 – 201, 2013.

GUDIN C.; THERPENIER, C. Bioconversion of solar energy into organic chemicals by microalgae. **Advances Biotechnology Processes**, v. 6, p. 73–110, 1986.

GUZZON, A.; BOHN, A.; DIOCIAIUTI, M.; ALBERTANO, P. Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. **Water Research**, v. 42, p. 4357 – 4367, 2008.

HARUN, R.; DAVIDSON, M.; DOYLE, M.; GOPIRAJ, R.; DANQUAH, M.; FORDE, G. Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility. **Biomass & Bioenergy**, v. 35, p. 741–747, 2011.

HEUBECK, S., CRAGGS, R. J., SHILTON, A. Influence of CO<sub>2</sub> scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. **Water Science and Technology**, 55, n.11, 193-200, 2007.

HONDA, R.; BOONNORAT, J.; CHIEMCHAI SRI, C.; CHIEMCHAI SRI, W.; YAMAMOTO, K. Carbon dioxide capture and nutrients removal utilizing treated sewage by concentrated microalgae cultivation in a membrane photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 125, p. 59 – 64, 2012.

HUNTLEY, M.; REDALJE, D. "CO Mitigation and Renewable Oil from Photosynthetic Microbes: A New Appraisal." **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, v. 12, n. 4, p. 573 - 608, 2007.

JOHNSON, M.; WEN, Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 525 – 534, 2010.

KEBEDE-WESTHEAD, E.; PIZARRO, C.; MULBRY, W. W. Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: production, nutrient recovery, and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, p. 41 – 46, 2006.

KAEWKANNETRA, P.; ENMAK, P.; CHIU, T. The effect of CO<sub>2</sub> and salinity on the cultivation of *Scenedesmus obliquus* for biodiesel production. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, p. 591 - 597, 2012.

KETHEESAN, B.; NIRMALAKHANDAN, N. Development of a new airlift-driven raceway reactor for algal cultivation. **Applied Energy**, v. 88, p. 3370 – 3376, 2011.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F. X.; LANGENHOVE, H. V. Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel

production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in Biotechnology**, v. 28, p. 371 – 380, 2010.

LEE, S. H.; OH, H. M.; JO, B. H.; LEE, S. A.; SHIN, S. Y.; KIM, H. S.; LEE, S. H.; AHN, C. Y. Higher Biomass Productivity of Microalgae in an Attached Growth System, Using Wastewater. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 11, p. 1566 –1573, 2014.

LI, Y.; HORSMAN, M.; WU, N.; LAN, C.; DUBOIS-CALERO, N. Biofuels from microalgae. **Biotechnology Progress**, v. 24, n. 4, p. 815–820, 2008.

LI, Y.; ZHOU, W.; HU, B.; MIN, M; CHEN, P.; RUAN, R. R. Integration of algae cultivation as biodiesel production feedstock with municipal wastewater treatment: Strains screening and significance evaluation of environmental factors. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10861 – 10867, 2011.

LIU, T. Z.; WANG, J.; HU, Q.; CHENG, P.; JI, B.; LIU, L.; CHEN, Y.; ZHANG, W.; CHEN, W.; CHEN, L.; GAO, L.; JI, C.; WANG, H. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 216 – 222, 2013.

LUNDQUIST, T. J.; WOERTZ, I. C.; QUINN, N. W. T.; BENEMANN, J. R. A realistic technology and engineering assessment of algae biofuel production. Berkeley, California: Energy Biosciences Institute, 2010.

MACK, W.N.; ANDERSON, A.O. Microbial film development in a trickling filter. **Microbial Ecology**, v. 2, p. 215 – 226, 1975.

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

MCGIN P. J., DICKINSON, K. E.; BHATTI, S.; FRIGON, J. C.; GUIOT, S. R.; O'LEARY, S. J. B. Integration of microalgae cultivation with industrial waste remediation for biofuel and bioenergy production: opportunities and limitations. **Photosynthesis Research**, v. 109, p. 231 – 47, 2011.

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

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; PIZARRO, C.; KEBEDE-WESTHEAD, E. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers, **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8137 – 8142, 2008.

OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 542 - 548, 2012.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 61, p. 633 – 639, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 63, n.8, p. 1758 - 1764, 2011.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v.102, p. 35 - 42, 2011.

POSADAS, E.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; SOLTAU, A.; DOMÍNGUEZ, A.; MUÑOZ, R. Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal–bacterial biofilm bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 50 – 58, 2013.

POWELL, N.; SHILTON, A.; CHISTI, Y.; PRATT, S. Towards a luxury uptake process via microalgae – defining the polyphosphate dynamics. *Water Research*, v. 43, p. 4207 – 4213, 2009.

PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 24, p. 159–171, 2013.

RAWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3411 – 3424, 2011.

RODOLFI, L.; ZITTELLI, G. C.; BASSI, N.; PADOVANI, G.; BIONDI, N.; BONINI, G.; TREDICI, M. R. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and a low-cost photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, n. 1, p.100–112, 2009.

RUIZ-MARTINEZ, A.; GARCIA, N. M.; ROMERO, I.; SECO, A.; FERRER, J. Microalgae cultivation in wastewater: Nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 247 - 253. 2012.

SAVAGE, P. E., HESTEKIN, J. A. A Perspective on Algae, the Environment and Energy. **Environmental Progress and Sustainable Energy**, v. 32, n. 4, p. 877 – 883, 2013.

SCHNURR, P.; ESPIE, G.; ALLEN, G. Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 337 – 344, 2013.

SCHNURR, P. J.; ALLEN, D. G. Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 418 – 429, 2015.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, p. 417 – 423, 2007.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 260 – 266, 2014.

SIERRA, E.; ACIÉN, F. G.; FERNÁNDEZ, J. M.; GARCÍA, J. L.; GONZÁLEZ, C.; MOLINA, E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 138, p. 136 - 147, 2008.

SIMONEIT, B. R. T.; ROGGE, W. F.; LANG, Q.; JAFFE, R. Molecular characterization of smoke from campfire burning of pine wood (*Pinus elliottii*). **Chemosphere**, v. 2, p. 107 – 22, 2000.

SINGH, G.; THOMAS, P. B. Nutrient removal from membrane bioreactor permeate using microalgae and in a microalgae membrane photoreactor. **Bioresource Technology**, v. 117, p. 80 – 85, 2012.

SUTHERLAND, D. L.; TURNBULL, M. H.; CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, v. 53, p. 271-281, 2014.

UGGETTI, E.; SIALVE, B.; TRABLY, E.; STEYER, J. Integrating microalgae production with anaerobic digestion: a biorefinery approach. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, v. 8, p. 516 – 529, 2014.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021 – 4028, 2008.

VAN DEN HENDE, S.; VERVAEREN, H.; BOON, N. Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 1405 – 1424, 2012.

VON SPERLING, M. **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. 8ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais; v. 2, p. 211, 2011.

WANG B.; LI Y.; WU N.; LAN C.Q. CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, p. 707-718, 2008.

WEI, Q.; HU, Z.; LI, G.; XIAO, B.; SUN, H.; TAO, M. Removing nitrogen and phosphorus from simulated wastewater using algal biofilm technique. **Frontiers of Environmental Science e Engineering in China**, v. 2, p. 446 – 451, 2008.

YEN, H. W., BRUNE, D. E. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 130-134, 2007.

ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage

sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource nutrient immobilization in Technology**, v. 130, p.152-160, 2013.

ZHU, J.; RONG, J.; ZONG, B. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 34, p. 80 -100, 2013.

ZHU, L. D.; HILTUNEN, E.; ANTILA, E.; ZHONG, J. J.; YUAN, Z. H.; WANG, Z. M. Microalgal biofuels: Flexible bioenergies for sustainable development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 1035 –1046, 2014.

ZHU, L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1376–1384, 2015.

ZIPPEL, B.; NEU, R.R. Growth and structure os phototrophic biofilms under controlled light conditions. **Water Science Technology**, v. 52, n. 7, p. 203 – 209, 2005.

## 6. CAPÍTULO I: INTEGRAÇÃO DE REATOR DE BIOFILME E LAGOA DE ALTA TAXA PARA CULTIVO DE MICROALGAS E TRATAMENTO DE ESGOTO DOMÉSTICO

### Resumo

A conciliação de crescimento algal em biofilme e tratamento de esgoto vem sendo estudada como tecnologia promissora para produção de biomassa em grande escala, uma vez que no biofilme há maior concentração algal e sua colheita pode ser facilmente realizada. Neste estudo foi proposto um sistema híbrido de produção de microalgas, constituído por um reator plano vertical de crescimento de biofilme adaptado a uma lagoa de alta taxa, em escala piloto, utilizando como meio de cultivo, o esgoto doméstico. As produtividades médias total e de clorofila *a* do sistema híbrido foram  $6,84 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  e  $0,17 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ , respectivamente. O tratamento do esgoto doméstico apresentou resultados médios de remoções de 74,4% de nitrogênio amoniacal, 27,4% de fósforo solúvel, 17,8% de demanda química de oxigênio solúvel e 32,8% carbono orgânico solúvel. A produtividade média lípidica foi  $3,0 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$  e os teores de carbono, nitrogênio e fósforo foram, respectivamente, 30, 5 e 1%. A tecnologia proposta demonstrou potencial para o cultivo e separação da biomassa algal, além do tratamento do esgoto doméstico. A maior concentração da biomassa permitiu que o biofilme fosse coletado de forma simples e fácil por raspagem.

**Palavras chave:** biofilme algal; colheita de biomassa; crescimento aderido; sistema híbrido; remoção de carbono e nutrientes.

## 6.1 Introdução

As microalgas são consideradas, atualmente, como fontes promissoras para produção de biocombustíveis e outros bioprodutos (MATA et al., 2010). O cultivo algal apresenta algumas vantagens em relação às fontes convencionais de biocombustíveis, como: colheita durante qualquer época do ano, crescimento rápido, possibilidade de cultivo em diversas configurações de reatores, minimizando as áreas requeridas. O cultivo de microalgas pode, ainda, utilizar águas residuárias como fonte de água e nutrientes como nitrogênio e fósforo, além da possibilidade de aproveitar gases de combustão de resíduos como fonte de CO<sub>2</sub> (DOUCHA et al., 2005; CHISTI, 2007; MORAIS e COSTA, 2007; SCHENK et al., 2008).

A conciliação de um processo econômico de separação e elevada produtividade de biomassa algal se faz muito interessante, principalmente em sistemas operacionais de grande escala. Nesse sentido, a produção de biofilme algal tem se tornado uma potencial solução para reduzir esses problemas, devido a maior concentração da biomassa (CHRISTENSON e SIMS, 2012; SCHNURR et al., 2013). Sistemas de cultivos suspensos já existentes, como as lagoas de alta taxa (LATs) convencionais, podem ser otimizados através da adaptação de um reator de biofilme.

Estudos como os de Christenson e Sims (2012), Gross et al. (2013) e Lee et al. (2014) avaliaram o crescimento de biomassa algal de forma suspensa e aderida em LATs com produção de biofilme. Esses autores relataram maior produtividade dos sistemas compostos por LAT e biofilme do que nos sistemas de cultivos suspensos convencionais (LATs e fotobiorreatores). Gross et al. (2013) concluíram que a LAT adaptada ao biofilme demonstrou facilidade de colheita. O sistema proposto de Christenson e Sims (2012) foi considerado pelos autores como uma promissora abordagem de cultivo e colheita em águas residuárias. Além de ser um potencial sistema no âmbito de produção em massa para biodiesel (LEE et al., 2014).

Este trabalho avaliou o potencial de crescimento de biofilme algal em um reator de crescimento de biofilme adaptado a uma LAT, em escala piloto, com suplementação de CO<sub>2</sub>. O reator de crescimento de biofilme ficou disposto verticalmente ao lado da LAT, diretamente em contato com a radiação solar e o

ar atmosférico. O meio de cultivo utilizado foi o esgoto doméstico, que contém carbono, nutrientes e água, que são assimilados pelas microalgas durante o crescimento. A produtividade da biomassa, a remoção de poluentes e a comunidade fitoplanctônica foram avaliadas comparativamente entre o sistema de cultivo suspenso e aderido. Os teores de lipídeos, carbono, nitrogênio e fósforo do biofilme também foram determinados.

## **6.2 Material e Métodos**

### *6.2.1 Área de estudo*

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

### *6.2.2 Unidade experimental e operação*

O sistema híbrido consistiu de uma lagoa de alta taxa (LAT), em escala piloto, e um reator de crescimento de biofilme, operados concomitantemente. O meio de cultivo utilizado foi esgoto doméstico proveniente de um reator Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), em escala real, com vazão média de 115 m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup> e tempo de detenção hidráulica (TDH) de 7 h.

A LAT possui as seguintes características: largura: 1,28 m; comprimento: 2,86 m; profundidade total: 0,5 m; profundidade útil: 0,3 m; área superficial: 3,3 m<sup>2</sup>; volume útil: 1 m<sup>3</sup>. A LAT foi confeccionada em fibra de vidro e os pedais em policloreto de polivinila (PVC), com duas lâminas. Os pedais foram movimentados por correntes ligadas a um motor elétrico de 1 cv. A rotação foi reduzida por um redutor acoplado ao motor e controlada por um inversor de frequência (WEG, CFW-10), que garantiram velocidade de, aproximadamente,

0,10 a 0,15 m.s<sup>-1</sup>. A LAT operou em fluxo contínuo com vazão de 0,2 m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup> e TDH de 5 dias.

O reator de crescimento de biofilme foi constituído por um painel plano vertical de PVC, com área de 1,0 m<sup>2</sup> (0,5 m<sup>2</sup> frente e verso do painel), revestido por material suporte para o crescimento algal, comumente chamado de entretela tecido (Entrevin, E460, 100% algodão) e usado na confecção de roupas. A escolha do material e do tipo de reator foi baseada em Vicente (2010).

O reator ficou disposto verticalmente ao lado da LAT, apoiado em um suporte confeccionado de tubos de PVC, diretamente em contato com o ar atmosférico e radiação solar. O efluente da LAT foi recirculado ao painel no período diurno, por uma moto bomba submersa (Sarlobetter SB 1000A) de vazão 1 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, potência de 13 W e capacidade de coluna d'água de 2,0 m. Após bombeado, o efluente percorria através de gotejamento a área superficial do painel e era recolhido por uma calha e retornado à LAT por gravidade.

O sistema híbrido utilizado nesse estudo está apresentado na Figura 6.1.

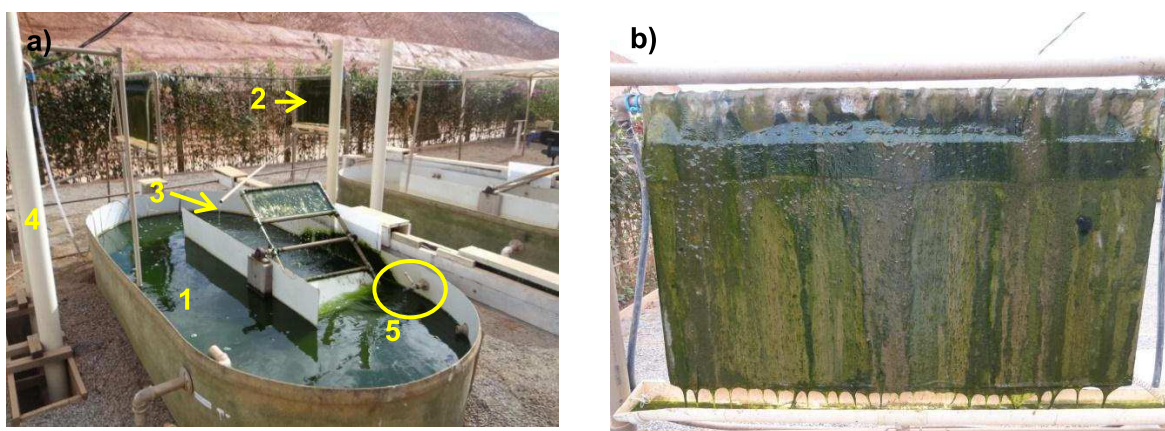


Figura 6.1 – (a) visão geral do sistema híbrido: lagoa de alta taxa (1), reator de crescimento de biofilme (2), recirculação do efluente (3), coluna de carbonatação (4), alimentação contínua de esgoto doméstico (5); (b) reator de crescimento de biofilme (26<sup>o</sup> dia de crescimento).

O sistema híbrido foi operado de 28 de maio a 24 de agosto de 2015 (Período I, 89 dias) com adição de CO<sub>2</sub> sintético em cilindro de gás com 99% de pureza. No segundo período, 20 de setembro a 19 de novembro de 2015 (Período II, 61 dias), foram adicionadas à LAT emissões atmosféricas provenientes da combustão da gasolina comum. A combustão da gasolina foi

realizada através de um gerador de energia a gasolina (Schulz, S5500MG) acoplado a um compressor de ar (Schulz, SCSL 10 BR/200), onde o gás da combustão ficou armazenado e, posteriormente, adicionado à LAT.

O controle da suplementação de CO<sub>2</sub> foi realizado através da variação do pH. Quando os valores de pH se aproximavam de 8,0, os gases foram adicionados à LAT através de uma coluna de carbonatação. A coluna de carbonatação foi construída em PVC e arquitetada de acordo com Putt et al. (2011), apresentando a altura de 2,20 m e 0,10 m de diâmetro. A vazão de recirculação do efluente da LAT, através da coluna de carbonatação, foi 4 L.min<sup>-1</sup> e foi realizada por uma moto bomba submersa (Sarlobetter SB 1000A). O controle da vazão dos gases foi realizado por fluxômetros com capacidade de 0 a 15 L.min<sup>-1</sup>, sendo que no período I a vazão de adição foi 1 L.min<sup>-1</sup> e 3 L.min<sup>-1</sup> no período II.

### *6.2.3 Produção de biomassa, tratamento de esgoto e condições ambientais*

Para obtenção das variáveis de tratamento de esgoto e produção de biomassa na LAT foram coletadas, duas vezes por semana, amostras compostas de 250 mL realizadas a cada 2h (do período de 8:00h até 16:00h). Para caracterização do afluente à LAT, obtenção da clorofila *a* e *Escherichia coli*, foram coletadas amostras simples às 16:00h. Análises incluindo alcalinidade total (Alc) (2320B), sólidos suspensos totais (SST) (2540D), sólidos suspensos voláteis (SSV) (2540E), demanda química de oxigênio solúvel (DQO<sub>s</sub>) (5220D amostras filtradas a 0,45 µm), nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (4500 – NH<sub>3</sub>C), nitrogênio total kjeldahl (NTK) (4500-N D), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (4500-NO3A) e fósforo solúvel (P<sub>s</sub>) (4500 P C - amostras filtradas a 0,45 µm) foram efetuadas de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012). O nitrogênio orgânico (Norg) foi obtido pela diferença entre NTK e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. O carbono total solúvel (CT<sub>s</sub>), carbono orgânico solúvel (COT<sub>s</sub>) e carbono inorgânico solúvel (CI<sub>s</sub>) foram obtidos usando o analisador Shimadzu TOC 5000. A análise de clorofila *a* foi realizada utilizando-se técnica de extração com etanol 80% a quente como descrito em norma holandesa (NEN, 1981), com base em Nush (1980). O método

cromogênico-fluorogênico (Colilert®) foi usado para analisar *Escherichia coli* (*E. coli*).

Adicionalmente, nas datas de amostragem, foram monitorados oxigênio dissolvido (OD), temperatura e pH no meio de cultivo da LAT, através da sonda Hach HQ40d (Luminescent Dissolved Oxygen–LDO–para OD) e foram mensuradas as radiações fotossinteticamente ativa (PAR) incidente utilizando o radiômetro LI-COR LI-193 Underwater Spherical Quantum Sensor. Estas medições acompanharam o intervalo de 2 horas de coleta.

#### 6.2.4 Caracterização do biofilme

A coleta da biomassa nos painéis começou no 7º dia de operação. A partir desse dia, foram realizadas raspagens a cada, aproximadamente, 48h. Foram coletadas, por raspagem, amostras compostas de seis posições da área superficial do painel (amostra do lado direito, do lado esquerdo e do meio, frente e verso do painel).

As amostragens foram utilizadas para quantificação da biomassa total, através das análises de sólidos totais voláteis (STV) (APHA, 2012), sendo que a área raspada de cada posição do painel foi de 6,25 cm<sup>2</sup>. Para a quantificação da biomassa algal, através da clorofila *a*, foram raspadas áreas de 1,0 cm<sup>2</sup> de cada posição do painel. A leitura da clorofila *a* foi determinada por espectrofotometria (APHA, 2012), e os cálculos foram determinados usando a equação de Schwarzbald et al. (2013), adaptada de Marker et al. (1980) e Sartory e Grobbelaar (1984) (Equação 6.1).

$$\text{Clorofila } a \text{ } (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}) = \frac{(E_b - E_a) \cdot (R/R - 1) \cdot k \cdot v}{S \cdot L} \quad \text{Equação 6.1}$$

Em que:

$E_b$ : absorvância do extrato a 665 nm menos a absorvância a 750 nm, antes da acidificação

$E_a$ : absorvância do extrato a 665 nm menos a absorvância a 750 nm, após a acidificação

R: 1,72 (razão de rendimento da clorofila *a* não acidificada, conforme

Wetzel e Likens (2000)

R/R – 1: 2,39

k: coeficiente de absorção da clorofila a (para etanol), em que  $k_{\text{etanol } 80\%} = 27,9$

v (mL): volume do solvente utilizado (etanol)

L (cm): comprimento do caminho óptico através da cubeta (1 cm)

S (cm<sup>2</sup>): área total raspada do substrato

Através da curva de clorofila a, acompanhou-se a produção algal no reator de crescimento de biofilme. Ao perceber o pico e o posterior decaimento de produção algal, a raspagem do painel foi realizada e caracterizou-se um ciclo de crescimento do biofilme. Cada período obteve dois ciclos de crescimento, portanto, foram realizadas duas raspagens em cada período.

Ao final de cada ciclo de crescimento do biofilme, os teores de carbono (WALKLEY e BLACK, 1934), nitrogênio (APHA, 2012) e fósforo (VALDERRAMA, 1981) foram determinados. Também foram calculados para o biofilme, usando os dados da coleta de sólidos totais, a concentração da biomassa (Kg.m<sup>-3</sup>) e o teor de umidade (%)

#### 6.2.5 Quantificação lipídica

O conteúdo lipídico foi determinado ao final de cada ciclo de crescimento. O biofilme colhido foi seco em estufa a 50°C durante 24 h, depois foi macerado e mantido no dessecador. A análise do conteúdo de lipídeos consistiu na pesagem da biomassa (0,1 g) para posterior rompimento da parede celular, com adições de 5 mL de HCL 3M, 4 mL de éter de petróleo e 25 mL de metanol. A mistura foi aquecida na chapa por 15 minutos, à 60 ° C. Foram realizadas 3 extrações via solvente, realizadas em funis de separação. Em cada extração foram adicionados 20 mL de éter de petróleo. Após a extração, o óleo extraído foi lavado com 10 mL de acetato de chumbo 4% para remover as impurezas e pigmentos. O conteúdo lipídico foi determinado por gravimetria com evaporação do solvente em chapa aquecedora à 60 °C e posterior secagem em estufa por 1 hora a 105 °C. O teor lipídico foi determinado em triplicata para cada amostra de cada ciclo de crescimento do

biofilme.

O teor lipídico foi calculado de acordo com a Equação 6.2.

$$\text{Teor lipídico (\%)} = 100 * \frac{(\text{peso do recipiente cheio}) - (\text{peso do recipiente vazio})}{(\text{peso da biomassa seca})}$$

Equação 6.2

A produtividade lipídica foi obtida multiplicando-se a produtividade de biomassa total (g STV . m<sup>-2</sup> . dia<sup>-1</sup>) pelo teor lipídico do biofilme, obtidos em cada ciclo de crescimento de biofilme.

#### 6.2.6 Comunidade fitoplanctônica

Ao final de cada ciclo de crescimento do biofilme, foram coletadas 200 mL de amostras da superfície da LAT e 25 cm<sup>2</sup> de seis posições do painel. As amostras foram conservadas em solução de formol 4% e foram destinadas à caracterização fitoplanctônica, que foi realizada em nível de gênero, e para o gênero dominante, foram identificadas as espécies presentes.

A contagem de indivíduos foi feita em câmara de sedimentação em Microscópio Invertido, pelo método de Uthermöhl (1958), a densidade dos organismos foi determinada utilizando os critérios descritos em APHA (2005). A identificação foi realizada de acordo com Parra et al. (1982) e Komarek e Fott (1983).

### 6.3 Resultados e discussão

#### 6.3.1 Condições ambientais

A Figura 6.2 apresenta o comportamento diurno dos parâmetros radiação fotossinteticamente ativa (PAR), temperatura, pH e a porcentagem de saturação de oxigênio dissolvido (OD) na LAT.

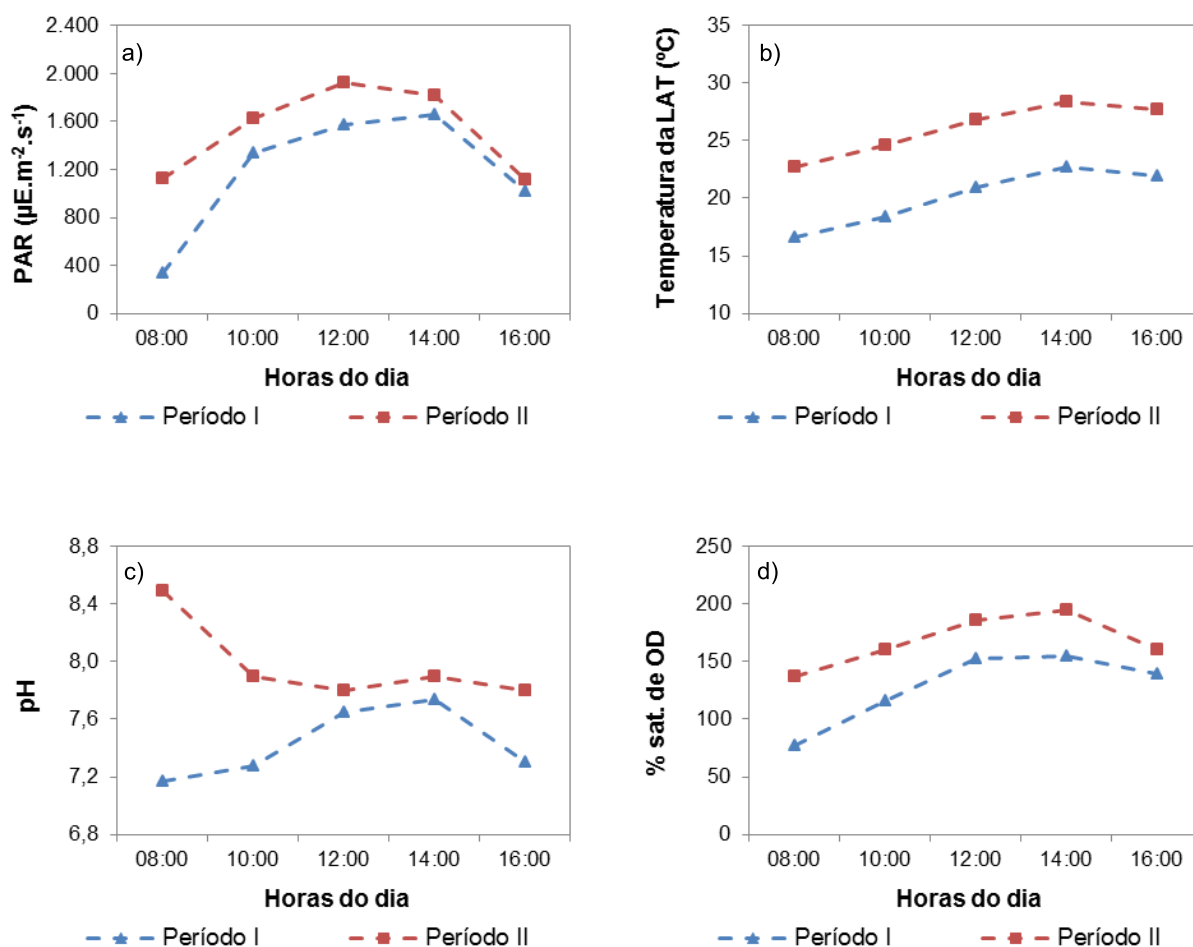


Figura 6.2 – Comportamento diurno dos parâmetros (média de todos os dias de coleta): (a) PAR, (b) temperatura, (c) pH, (d) % de saturação de OD.

O comportamento da PAR, nos dois períodos de monitoramento, foram semelhantes. Os picos máximos de radiação ocorreram às 14:00h no período I (1655  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ), e às 12:00h no período II (1926  $\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). O período I ocorreu no início da estação mais fria do ano, o inverno. O período II ocorreu na estação da primavera, época em que a temperatura ambiente é maior e os dias são mais quentes e mais longos. Logo, observaram-se durante esse período maiores valores de PAR (Figura 6.2a).

A temperatura do meio de cultivo na LAT é influenciada diretamente pela radiação solar incidente, devido a transferência de calor para a massa líquida que promove a interação dos fótons com as moléculas e faz com que as mesmas vibrem e se aqueçam (SANTIAGO, 2013). No período II, assim como a PAR, a temperatura da LAT também foi maior. Entre o intervalo das 8:00h até

14:00h, a temperatura aumentou e atingiu máximos de 22,76 e 28,37°C, respectivamente, nos períodos I e II (Figura 6.2b).

Durante o período I, o aumento do pH da LAT nos horários de maior radiação solar (12:00h – 14:00h) ocorreu devido a atividade fotossintética que se intensifica nesse intervalo, interferindo no consumo de carbono inorgânico e, conseqüentemente, na variação do pH. No início da manhã, nesse período, o comportamento do pH apresentou menores valores devido ao predomínio da respiração dos organismos durante a noite. O ponto máximo médio diurno (7,7) foi às 14:00h, horário em que a PAR e a temperatura atingiram seus valores máximos nesse período (Figura 6.2c).

Ao contrário do período I, no período II os maiores valores de pH foram observados durante a manhã, devido a não adição de CO<sub>2</sub> no período noturno. A predominância da respiração durante a noite aumentou a concentração de CO<sub>2</sub>, e devido a troca gasosa facilitada pelos movimentos dos pedais pode ter ocorrido desprendimento de CO<sub>2</sub> para a atmosfera, aumentando o pH do meio (Figura 6.2c). Resultados semelhantes de aumento dos valores de pH durante a noite foram também reportados por Arbib et al. (2013) e Váldez et al. (2012). Os autores associaram esse fato às perdas de CO<sub>2</sub> pelo fluxo de injeção dos gases nos fotobioreatores tubulares.

No período II, o pH foi controlado pela adição das emissões provenientes da combustão da gasolina. A vazão de gás foi 3 L.min<sup>-1</sup> contra 1 L.min<sup>-1</sup> da adição de gás com 99% de CO<sub>2</sub> puro, no período I. Apesar do fluxo de gás ter sido maior no segundo período, a presença de outros gases nas emissões da combustão da gasolina fez com que o controle do pH fosse realizado de forma mais lenta, portanto os valores não variaram muito e ficaram próximos a 8,0. Além disso, a maior PAR nesse período favoreceu a maior produtividade algal, ocasionando maior e mais rápido consumo de CO<sub>2</sub> do meio e, conseqüentemente, o pH se manteve mais elevado.

Nos dois períodos, a LAT atingiu saturação de OD durante quase todo o comportamento diurno, exceto para os valores médios de 8:00h do período I. Os pontos máximos da média de saturação de OD foram às 12:00h (153%) no período I e às 14:00h (195%) no período II. Sabe-se que, no segundo período, a PAR foi maior, indicando que o comportamento diurno do OD foi influenciado

pela variação da atividade fotossintética em função da variação da PAR (Figura 6.2d).

Os valores de % de saturação de OD para a LAT avaliada no presente estudo foram maiores que os apresentados na literatura. Santiago et al. (2013) encontraram saturação média de 118%, operando com o mesmo efluente na mesma LAT e TDH de 4 dias, sem suplementação de CO<sub>2</sub>. Park e Craggs (2011) operaram uma LAT com o TDH de 4 dias com adição de CO<sub>2</sub> e apresentaram % de saturação de OD de 55,9. Park e Craggs (2010) apresentaram valores máximos de % de OD de 84,0 no verão (dezembro de 2007), para LAT com 4 dias de TDH. Craggs et al. (2012) apresentaram valores de 86,2 a 98,2 de % de saturação de OD em LATs com adição de CO<sub>2</sub>.

### 6.3.2 *Tratamento de esgoto doméstico*

As variáveis médias de qualidade do afluente e do efluente à LAT, em cada período de monitoramento, estão apresentadas na Tabela 6.1. Nos períodos I e II, os afluentes apresentaram relação C:N:P de, aproximadamente, 21:10:1 e 23:11:1, respectivamente. Essas relações são consideradas insuficientes para o desenvolvimento algal, segundo relatado pela literatura (OSWALD, 1960; WOERTZ et al., 2009; POSADAS et al., 2013; ASSEMAN Y et al., 2014).

A remoção de DQO foi baixa nos dois períodos de monitoramento (26,7% no período I e 9% no período II). Como a concentração de DQO do efluente da LAT permaneceu entre 80 e 90 mg.L<sup>-1</sup> nos dois períodos, a baixa remoção de DQO pode ser atribuída à variação da concentração de DQO afluente (GARCÍA et al., 2006; MATAMOROS et al., 2015). O carbono orgânico total solúvel (COT<sub>s</sub>) foi removido com eficiências de 45% e 21% nos períodos I e II, respectivamente. Além da variação do COT afluente, o estabelecimento de microrganismos que promovem a degradação da matéria orgânica pode ter sido afetado, durante o período II, devido ao aumento do pH.

Observou-se satisfatória remoção de nitrogênio amoniacal, 79% e 70%, respectivamente, nos períodos I e II. Referências como de García et al. (2000) (57 a 73%), Craggs et al. (2012) (64-67%), Santiago et al. (2013) (71%) e Sutherland et al. (2014) (47 a 79%) apresentaram eficiências de remoção

próximas as obtidas nesse estudo. A assimilação de nitrogênio amoniacal pela biomassa algal foi responsável por grande parte dessa remoção, além da conversão em nitrato pelas bactérias nitrificantes ao longo do tratamento.

Tabela 6.1 - Caracterização do afluente e do efluente à LAT em cada período de monitoramento (média e desvio padrão).

Parâmetros	Período I (n <sub>1</sub> = 24)		Período II (n <sub>2</sub> = 18)	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
COT <sub>s</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	43,1 (17,0)	23,8 (20,7)	37,4 (12,3)	29,5 (49)
CT <sub>s</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	109,4 (14,5)	36,4 (27,4)	118,1 (23,7)	63,1 (18,4)
DQOs (mg.L <sup>-1</sup> )	116,0 (111,5)	85,0 (65,4)	98,5 (37,4)	89,4 ( 67,5)
NTK (mg.L <sup>-1</sup> )	50,5 (22,0)	16,8 (13,1)	54,6 (39,2)	19,9 (20,9)
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	37,3 (13,9)	7,9 (10,4)	35,8 (17,5)	10,8 (10,9)
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	1,6 (1,2)	42,0 (41,5)	0,7 (0,7)	5,6 (6,4)
P <sub>s</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	5,2 (0,9)	3,9 (1,0)	5,1 (1,9)	3,6 (1,7)
SST (mg.L <sup>-1</sup> )	245,2 (413,2)	117,7 (47,3)	439,7 (403,2)	198,3 (95,4)
SSV (mg.L <sup>-1</sup> )	133,2 (174,7)	102,9 (40,8)	210,8 (245,8)	159,0 (71,1)
Clorofila a (mg.L <sup>-1</sup> )	-	2,2 (0,9)	-	3,8 (1,3)
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL)	2,6E+05 (6,5E+05)*	5,2E+03 (2,5E+06)*	4,7E+04 (1,1E+06)*	1,4E+03 (1,3E+04)*

\*média geométrica (desvio padrão). n<sub>1</sub> = 24 (Número de amostras coletadas no período I). n<sub>2</sub> = 18 (Número de amostras coletadas no período II).

O valor médio de nitrato do período II, 5,6 mg.L<sup>-1</sup>, está próximo ao resultado de Nascimento et al. (2013), 4,5 mg.L<sup>-1</sup> de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, que operaram uma LAT com 0,30 m de profundidade, TDH de 6 dias e o esgoto doméstico proveniente de um reator UASB.

No período I, porém, o incremento de nitrato apresentou valor médio de 42 mg.L<sup>-1</sup>. Esse resultado é elevado em relação a faixa de 4,5 – 17,0 mg.L<sup>-1</sup> encontrada na literatura (GARCÍA et al., 2000; NASCIMENTO et al., 2013; SANTIAGO et al., 2013). O maior tempo de operação da LAT pode ter propiciado a melhor adaptação e desenvolvimento das bactérias nitrificantes, em relação ao período I.

Como nos dois períodos de monitoramento, houve controle do pH na LAT, a remoção de fósforo foi atribuída à assimilação pela biomassa algal. As remoções foram de 26% no período I e 29% no período II. Esses resultados

foram próximos a taxa de 32% encontrada por Nascimento et al. (2013) e superiores à remoção de 14% relatada por Santiago et al. (2013) e Craggs et al. (2012), 14-24,4%, que operaram LATs em escala piloto e em hectares. Craggs et al. (2012) consideraram que a pouca remoção pode estar relacionada com a baixa concentração de fósforo do esgoto doméstico afluyente.

Quanto à *Escherichia coli* na LAT, foi observada a remoção de 2 e 1 unidades logarítmicas, respectivamente, nos períodos I e II. Esse resultado corrobora o de Craggs et al. (2012) e Santiago et al. (2013).

### 6.3.3 Produtividades no sistema híbrido

As produtividades médias algais e totais do sistema híbrido alcançadas durante o período II foram maiores do que no período I (Tabela 6.2).

Tabela 6.2 – Produtividades no sistema híbrido (média e desvio padrão).

	Período I		Período II	
	Primeiro ciclo (n <sub>1</sub> = 15)	Segundo Ciclo (n <sub>2</sub> = 14)	Primeiro Ciclo (n <sub>1</sub> = 15)	Segundo Ciclo (n <sub>2</sub> = 14)
<i>Produtividade total (g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>)</i>				
LAT	5,40 (2,67)	6,36 (2,76)	7,04 (4,49)	11,47 (3,94)
Biofilme	1,09 (0,43)	2,57 (0,60)	2,57 (1,11)	1,87 (0,90)
Total *	4,83	5,86	6,45	10,21
<i>Produtividade de clorofila a (g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>)</i>				
LAT	0,12 (0,08)	0,15 (0,04)	0,20 (0,06)	0,27 (0,06)
Biofilme	0,02 (0,01)	0,02 (0,01)	0,04 (0,03)	0,01 (0,005)
Total *	0,11	0,13	0,18	0,24

\*as produtividades totais de cada ciclo foram determinadas através do cálculo de média aritmética ponderada. n<sub>1</sub> = 15 é o número de amostras coletadas no primeiro ciclo de crescimento algal, para os períodos I e II. n<sub>2</sub> = 14 é o número de amostras coletadas no segundo ciclo de crescimento algal, para os períodos I e II.

As produtividades no sistema híbrido foram maiores no período II. As produtividades médias de clorofila a e total foram, respectivamente, 75 e 56% maiores no segundo período.

Segundo Veloso et al. (1991), relações entre clorofila a e SSV entre 1 e 1,5% indicam boa proporção da cultura algal com a biomassa total. Relações inferiores dizem respeito a uma biomassa algal sujeita a *stress*, com

competição por nutrientes e predação. A relação clorofila *a* / SSV na LAT foi 2,28 e 2,48%, respectivamente, nos períodos I e II. No biofilme, essa relação foi 1,1% no período I e 1,2% no período II. A partir dessas relações pode-se afirmar que todo o sistema híbrido teve uma proporção de biomassa algal rica na biomassa total.

Através das curvas de clorofila *a* foi possível acompanhar o crescimento do biofilme algal no reator (Figura 6.3). Ao observar o pico e o posterior decaimento de produção de clorofila *a*, o biofilme foi colhido por raspagem e caracterizou-se um ciclo de crescimento. Além disso, o residual do biofilme foi mantido no painel e serviu como inóculo para o crescimento das microalgas no segundo ciclo (Figura 6.4).

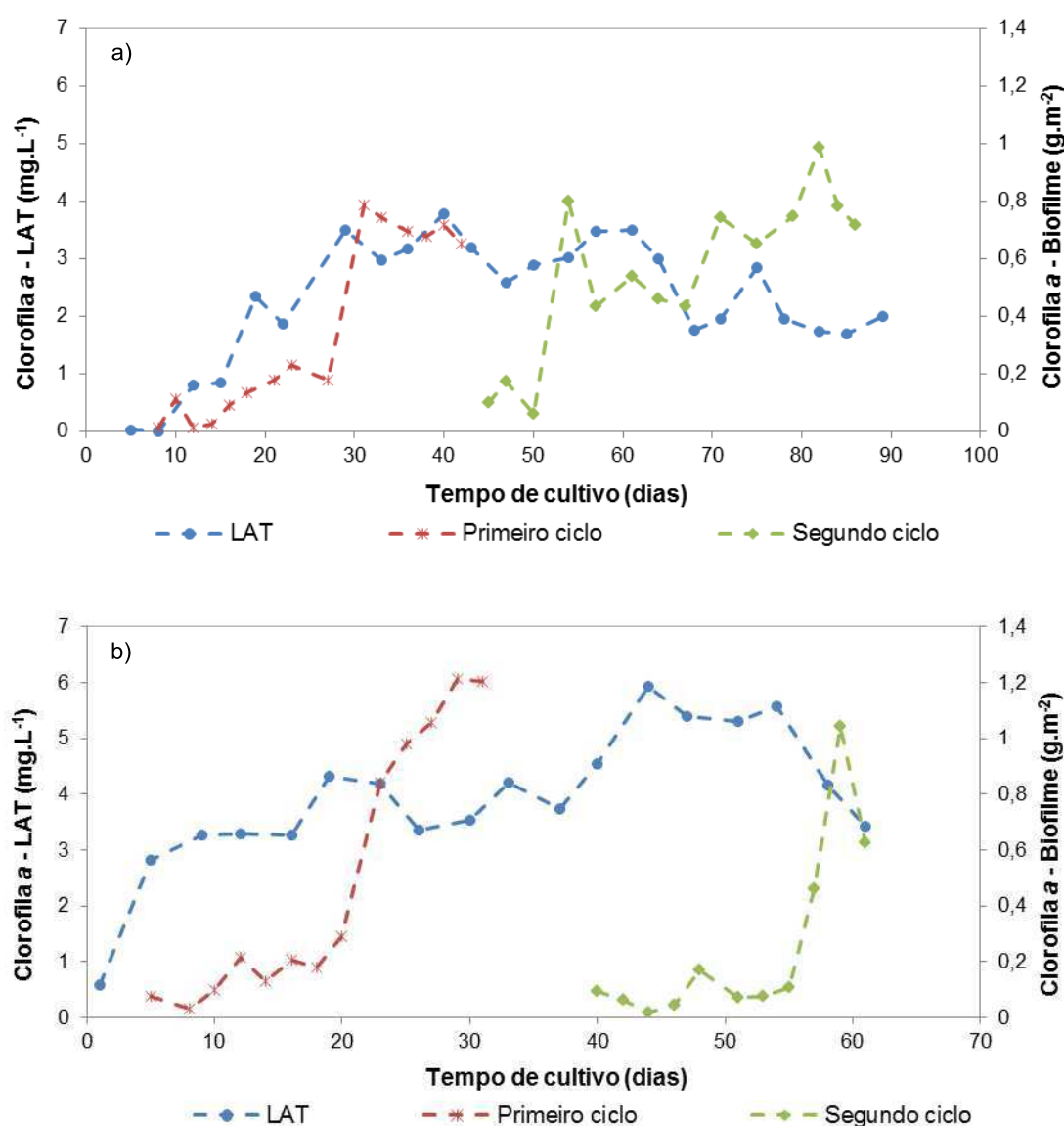


Figura 6.3 – Produção de clorofila *a* na LAT e no biofilme: (a) período I, (b)

período II.

Observa-se, pela Figura 6.3a, que o segundo ciclo de crescimento do biofilme algal no período I foi mais rápido e atingiu picos mais elevados, 0,8 e 0,9 g.m<sup>-2</sup>, respectivamente, no 12º e no 40º dia de crescimento. Enquanto no primeiro ciclo de crescimento foram 31 dias para alcançar o pico de 0,7 g.m<sup>-2</sup>. O melhor desenvolvimento algal aderido no meio suporte contendo inóculo já foi reportado na literatura, em escala de laboratório, usando esgoto doméstico (CHIRSTENSON e SIMS, 2012) e cultivo puro de algas (JOHNSON e WEN, 2010; GROSS et al., 2013).

No período I, as curvas do biofilme obtiveram o comportamento similar à curva do crescimento suspenso na LAT. Quando houve queda na concentração de clorofila *a* na LAT, alguns dias depois ocorreram queda na concentração de clorofila *a* aderida aos painéis. O pico máximo de clorofila *a* na LAT, em todo o período I, foi 3,8 mg.L<sup>-1</sup> no 40º dia de cultivo.

No período II, entretanto, não foi possível acompanhar todo o desenvolvimento do biofilme, uma vez que o material suporte para o crescimento algal deteriorou-se e o biofilme foi coletado antes de atingir o pico e o posterior decaimento da produção algal. Devido a este fato, no painel não permaneceu o inoculo do biofilme para o crescimento das microalgas. Apesar desse inconveniente, o sistema híbrido alcançou maiores produtividades nesse período.

Nota-se pela Figura 6.3b que o crescimento no segundo ciclo, do período II, demorou cerca de 19 dias para atingir o pico máximo, tempo este superior ao crescimento na presença de inóculo (Figura 6.3a).

O primeiro ciclo de crescimento do biofilme, do período II, atingiu um pico mais elevado (1,2 g.m<sup>-2</sup>) do que no segundo ciclo de crescimento (1,0 g.m<sup>-2</sup>), respectivamente, no 29º e no 35º dia de cultivo. O pico máximo de clorofila *a* na LAT, em todo o período II, foi 5,9 mg.L<sup>-1</sup> no 44º dia de cultivo (Figura 6.3b).

Enquanto o desenvolvimento algal foi acompanhado pelo monitoramento da clorofila *a*, as variáveis SSV e STV foram utilizadas como medida indireta da concentração de biomassa total (algas, bactérias e outros), respectivamente, na LAT e no painel.



Figura 6.4 – Crescimento do biofilme: a) material suporte, b) biofilme no 42º dia de cultivo, c) biofilme residual da primeira raspagem.

Assim como o comportamento da clorofila *a*, o crescimento de STV no segundo ciclo do período I foi mais rápido e atingiu o pico mais elevado, 105,7 gSTV.m<sup>-2</sup>, no 34º dia de crescimento. Enquanto no crescimento inicial foram 42 dias para alcançar o valor máximo de 66,1 gSTV.m<sup>-2</sup>. O pico máximo de SSV na LAT, em todo o período I, foi 166,7 mgSSV.L<sup>-1</sup> no 64º dia de cultivo (Figura 6.5a).

O primeiro ciclo de crescimento (97,9 gSTV.m<sup>-2</sup>), do período II, atingiu pico mais elevado STV em relação ao segundo ciclo (72,9 gSTV.m<sup>-2</sup>), no 27º e no 21º dia de cultivo, respectivamente. O pico máximo de SSV na LAT, em todo o período II, foi 337 mg SSV.L<sup>-1</sup> no 54º dia de cultivo (Figura 6.5b).

Em geral, a parcela de SSV em relação a SST na LAT foi elevada com, aproximadamente, 87% no período I e 79% no período II. Esse fato é devido à presença de algas, bactérias e fungos, assim como matéria orgânica suspensa no meio de cultivo. Já nos painéis a parcela de STV em relação a ST foi inferior com cerca de 54% e 56% nos períodos I e II, respectivamente. Isso indica que nos painéis houve considerada presença de sólidos fixos, ou seja, matéria inorgânica proveniente do esgoto doméstico. Tal fato era esperado, uma vez que o reator de crescimento de biofilme também pode ser considerado uma etapa de separação física em filme e, conseqüentemente, reteve sólidos fixos.

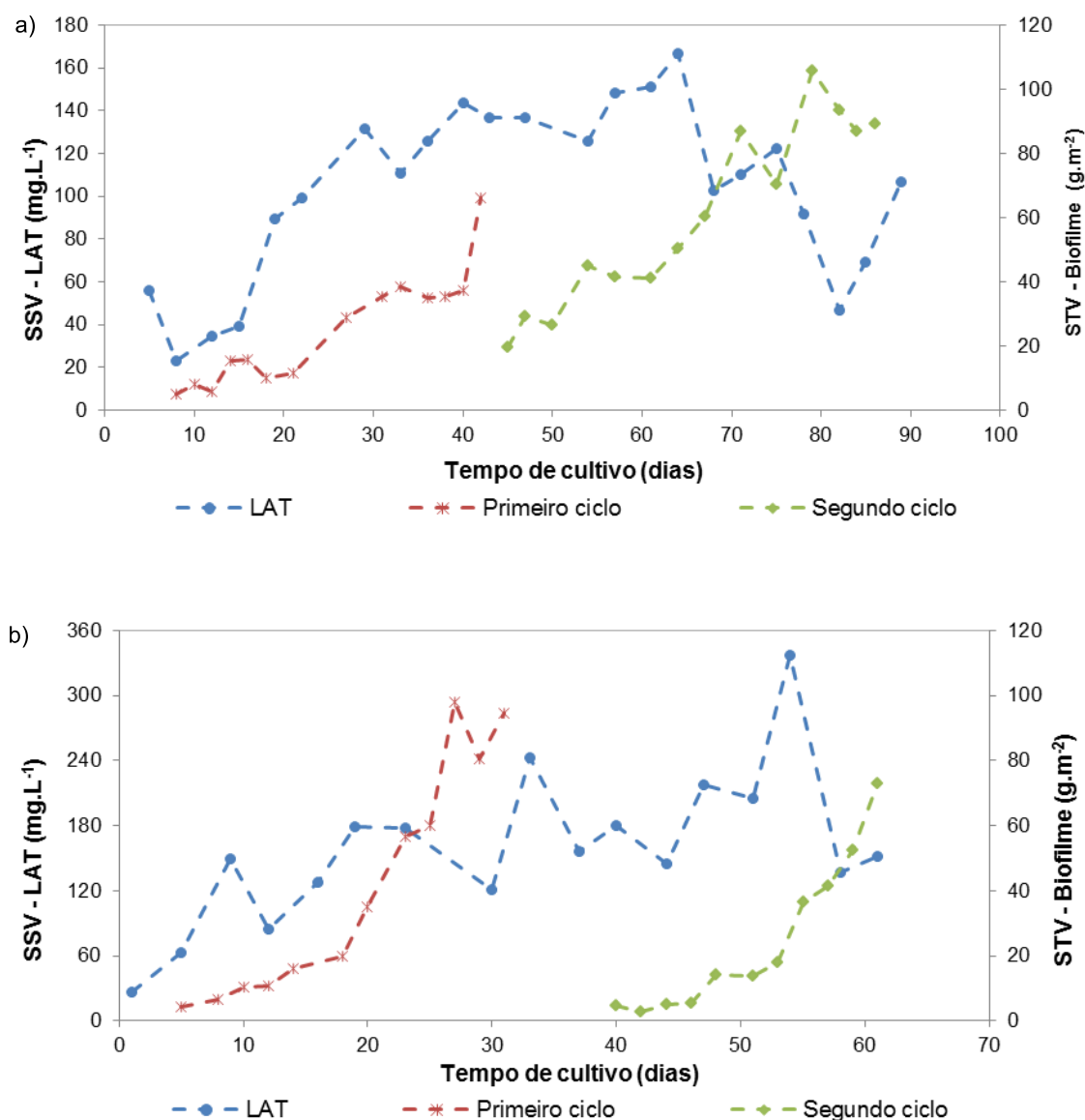


Figura 6.5 – Crescimento total na LAT e no biofilme: a) período I, b) período II.

#### 6.3.4 Caracterização do biofilme e produtividade lipídica

A colheita direta do biofilme produziu uma concentração de biomassa de  $120,7 \pm 5,0 \text{ kg.m}^{-3}$  e  $129,3 \pm 3,9 \text{ kg.m}^{-3}$ , respectivamente, para os períodos I e II. Esses parâmetros também foram calculados para o biofilme cultivado por *Botryococcus braunii*, durante 35 dias, por Ozkan et al. (2012). Os resultados desse estudo foram superiores aos encontrados pelos autores citados, cuja concentração da biomassa foi  $96,4 \pm 6,8 \text{ kg.m}^{-3}$ .

O teor de umidade média do biofilme foi 88% (período I) e 87% (período II). Liu et al. (2013) encontraram teores de umidade entre 70 e 80% em um

biofilme cultivado em meio sintético tendo uma placa de vidro revestida por filtro de papel como material aderente.

Durante ambos os períodos, entretanto, observou-se que o biofilme quando já se apresentava de forma espessa, tendeu a se desprender do painel, fato que pode ter levado a perda de biomassa por arraste. A vazão de recirculação do efluente, o tipo de material suporte ou a inclinação do painel pode ter favorecido o desprendimento dessa biomassa. Estudos como de Posadas et al. (2013), Zamalloa et al. (2013) e Boelee et al. (2014) também relataram esse arraste da biomassa nos biofilmes estudados.

A produtividade de biomassa algal aderida a materiais suportes tem sido relatada em alguns estudos com diferentes meios de cultivos, tipos de materiais e configurações de biofilme. A Tabela 6.3 apresenta comparativamente o resultado deste estudo com outros trabalhos com crescimento aderido na literatura.

Estudos como esse, que conciliam produção algal de forma suspensa e aderida em um sistema híbrido, utilizando esgoto doméstico como meio de cultivo, ainda são escassos. Christenson e Sims (2012), Gross et al. (2013) e Lee et al. (2014) são exemplos de autores que se arriscaram na tentativa de adaptar *raceways* com o cultivo de biofilme algal.

Tabela 6.3 – Desempenho de diferentes fotobiorreatores de biofilme algal aplicados ao cultivo de microalgas em esgoto doméstico e meio sintético em termos médios de produtividade total do biofilme ( $P_b$ ), conteúdo lipídico total ( $C_L$ ), produtividade lipídica ( $P_L$ ), carbono total (C), nitrogênio total (N) e fósforo total (P).

Material suporte	Meio de cultivo e espécies de microalgas	$P_b$ (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	$C_L$ (%)	$P_L$ (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	C	N	P
Malha de fibra de vidro revestida por membrana de nitrocelulose <sup>a</sup>	Cultivo de <i>Scenedesmus rubescens</i> e <i>Chlorella vulgaris</i> em esgoto doméstico	0,9-1,3	-	-	-	0,9-1,2 mg.L <sup>-1</sup> (Nitrogênio Amoniacal)	0,2-0,3 mg.L <sup>-1</sup> (Fosfato)
Plástico PVC <sup>b</sup>	Cultivo de <i>Botryococcus braunii</i> em meio sintético	4,9	-	-	0,5 g.g <sup>-1</sup>	0,05 g.g <sup>-1</sup>	<0,01 g.g <sup>-1</sup>
Trança de algodão <sup>c</sup>	Culturas mistas em esgoto doméstico	20,0	-	-	-	-	-
Concreto <sup>d</sup>	Cultivo de <i>Botryococcus braunii</i> em meio sintético	0,7	26,8	-	-	-	-
Algodão <sup>e</sup>	Cultura de <i>Chlorella vulgaris</i> em meio sintético	3,2	7,7	-	-	-	-
Placa de vidro <sup>f</sup>	Cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> em esgoto doméstico. (Ocorreram mudanças na dominância microalgal para <i>Phormidium sp.</i> e <i>Oscillatoria sp.</i> )	1,9	-	-	-	38,0 mg.g <sup>-1</sup>	8,5 mg.g <sup>-1</sup>
Plástico PVC <sup>g</sup>	Culturas mistas de microalgas em esgoto doméstico	3,1	-	-	-	-	-
Placa de vidro <sup>h</sup>	Cultivo de <i>Scenedesmus obliquus</i> e <i>Nitzschia palea</i> em meio sintético	2,1-2,8	8,0-15,0	0,2-0,5	-	-	-
Malhas de nylon <sup>i</sup>	Cultivo de <i>Scenedesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Pediastrum</i> , <i>Nitzschia</i> , <i>Cosmarium</i> e microalgas filamentosas em esgoto doméstico	9,1	21,3	1,9	-	-	-
Malha de fibra de vidro revestida por membrana de nylon <sup>j</sup>	Cultivo de <i>Halochlorella rubescens</i> em esgoto doméstico	6,3	-	-	-	1,3 mg.L <sup>-1</sup>	0,2 mg.L <sup>-1</sup>
Entretela de algodão <sup>k</sup>	Cultivo misto de microalgas em esgoto doméstico	2,0 (0,3)	3,0 (1,1)	0,03 (0,01)	0,6 g.g <sup>-1</sup> (1,1)	0,1 g.g <sup>-1</sup> (0,1)	0,02 g.g <sup>-1</sup> (0,01)

a: Shi et al. (2007); b: Boelee et al. (2011); c: Christenson e Sims (2012); d: Ozkan et al. (2012); e: Gross et al. (2013); f: Zamalloa et al. (2013); g: Posadas et al. (2013); h: Schnurr et al. (2013); i: Lee et al. (2014); j: Shi et al. (2014); k: esse estudo.

O conteúdo lipídico médio total de 3% e a produtividade lipídica ( $0,03 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ ) do biofilme também estão apresentados na Tabela 6.3.

Fatores como a espécie cultivada, o meio de cultivo, condições operacionais, tipo de FBR, entre outros, estão associados ao conteúdo lipídico.

Para Shen et al. (2014), o conteúdo lipídico é significativamente menor quando a biomassa é cultivada em águas residuárias, quando comparadas com meio sintético, devido a presença de outros microrganismos que possuem baixo teor de lipídeos.

Estudos como de Ozkan et al. (2012), Gross et al. (2013) e Schnurr et al. (2013) cultivaram o biofilme em meio sintético e condições ambientais controladas e apresentaram resultados de conteúdo lipídico de, respectivamente, 26,8, 7,7 e 8-15%. Esses resultados foram maiores do que os valores encontrados nesse estudo. Entretanto, condições controladas provenientes de alto requerimento tecnológico para cultivos de biomassa podem tornar onerosa a produção de biocombustíveis (ASSEMANY et al., 2014). O biofilme cultivado por Lee et al. (2014), em esgoto doméstico, foi considerado pelos autores como um dos cultivos de biofilme em escala piloto, que apresentou mais elevado conteúdo lipídico (21,3%) em relação a literatura.

Na Tabela 6.3 são apresentadas as médias dos teores totais de carbono ( $0,6 \text{ g.g}^{-1}$ ), nitrogênio ( $0,1 \text{ g.g}^{-1}$ ) e fósforo ( $0,02 \text{ g.g}^{-1}$ ) no biofilme, que correspondem a respectivamente, 30, 5 e 1% da biomassa média coletada nos dois períodos de monitoramento. Os teores de C estão próximos aos relatados por Boelee et al. (2011), enquanto os conteúdos de N e P foram superiores aos resultados de Boelee et al. (2011) e Zamalloa et al. (2013). Shi et al. (2007) e Shi et al. (2014) encontraram valores na faixa de  $0,9$  a  $1,3 \text{ mg.L}^{-1}$  de N e  $0,2$  a  $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$  de P, sendo que no primeiro trabalho a quantificação teve como base o nitrogênio amoniacal e o fosfato. Shi et al (2007) encontraram remoções de N e P na ordem de 96% e 90%, respectivamente, tendo meio sintético como meio de cultivo de um biofilme com camada dupla em escala de bancada. Shi et al. (2014) avaliaram um protótipo de biofilme em escala maior e concluíram que P e N podem ser removidos na faixa de 70 a 99% durante o tratamento com esgoto doméstico.

### 6.3.5 Comunidade fitoplanctônica

A Figura 6.6 apresenta a abundância relativa das principais espécies fitoplanctônicas encontradas na LAT e no biofilme. Na LAT, a microalga *Chlorella vulgaris* (83%) foi dominante, seguida pela *Scenedesmus acutus* (14%), durante o período I. Enquanto no período II, houve predominância de 97% da *Scenedesmus acutus* contra apenas 3% de *Chlorella vulgaris*. Essas espécies são comumente encontradas nas LATs durante o tratamento de esgotos (Park et al., 2011). No biofilme, durante os dois períodos, predominaram *Chlorella vulgaris* (71 e 53%), *Scenedesmus acutus* (7 e 45%) e *Oscillatoria sp.* (3 e 2%).

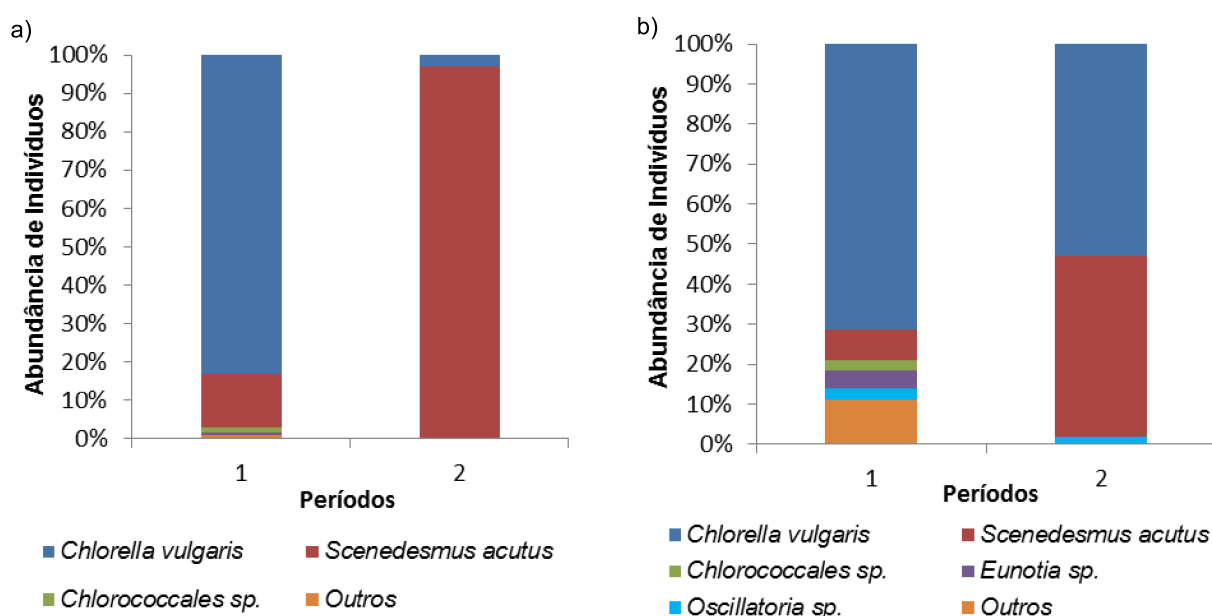


Figura 6.6 – Comunidades fitoplanctônicas na LAT (a) e no biofilme (b), durante os períodos I e II (abundância de indivíduos, %).

A cianobactéria *Oscillatoria sp.* cresceu somente no biofilme, nos dois períodos, indicando que o ambiente do painel foi favorável ao desenvolvimento de diferentes microrganismos fitoplanctônicos daquelas observadas na LAT, apesar da recirculação do seu efluente. Zamalloa et al. (2013) também observaram a presença de *Oscillatoria sp.* na superfície do biofilme tendo águas residuárias como meio de cultivo.

Durante o período I no biofilme foram observadas *Eunotia sp.* e também outras espécies menos abundantes.

Dentre as diversas algas, bactérias, cianobactérias, protozoários e microrganismos unicelulares que compõem um biofilme, consideram-se as algas verdes, as diatomáceas e as algas filamentosas como o grupo que apresentam as maiores frações na biomassa do biofilme (OGBONNA e TANAKA, 1998; LIANG et al., 2009; SCHUNURR et al., 2015). Durante somente o período I, foi observado na subsuperfície da LAT a presença de clorófitas filamentosas (Figura 6.7).

Intensidade de luz, temperatura, concentrações de nutrientes e taxa de cisalhamento são fatores que afetam as espécies predominantes em um biofilme (Schunurr et al., 2015). Durante os dois períodos, as concentrações de nutrientes advindas do esgoto doméstico se mantiveram próximas e a vazão de recirculação do efluente da LAT ao painel foi constante. A PAR e a temperatura do efluente da LAT foram maiores durante o segundo período, o que pode ter favorecido a menor abundância de espécies.



Figura 6.7 – Crescimento de clorófitas filamentosas na LAT durante o período I (35º dia de cultivo).

#### 6.4 Conclusão

A tecnologia integrada de reator de crescimento de biofilme e lagoa de alta taxa demonstrou potencial para o cultivo da biomassa algal e tratamento do esgoto doméstico.

As condições ambientais, principalmente a PAR, influenciaram na diversidade de espécies, que foi maior no período I, bem como as produtividades do sistema híbrido, superior no período II.

No biofilme, houve o desenvolvimento de diferentes microrganismos fitoplanctônicos em relação à LAT. O reduzido conteúdo lipídico dos

microrganismos presentes no esgoto doméstico contribuiu para a baixa produtividade lipídica.

O crescimento de biofilme contribuiu para aumento da concentração e diminuição do teor de umidade da biomassa advinda da LAT e caracterizou o reator como uma etapa de separação física em filme. Tal fato permitiu a coleta da biomassa por raspagem, de forma fácil, simples e econômica.

## 6.5 Referências

APHA. Standard Methods for examination of water and wastewater. Washington: American Water Work Association, Water Environmental Federation. 2012.

ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DIAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. **Ecological Engineering**, v. 52, p. 143-153, 2013.

ASSEMANY, P. P. Efeito da radiação solar e pré-desinfecção na caracterização lipídica de biomassa cultivada em lagoas de alta taxa utilizando esgoto doméstico. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil), Universidade Federal de Viçosa. 102 p. 2013.

ASSEMANY, P. P., CALIJURI, M. L., SANTIAGO, A. F., COUTO, E. A., LEITE, M. O., SIERRA, J. J. B. Effect of solar radiation on the lipid characterization of biomass cultivated in high rate algal ponds using domestic sewage. **Environmental Technology**. In press. 2014.

BOELEE, N. C.; TEMMINK, H.; JANSSEN, M.; BUISMAN, C. J. N.; WIJFFELS, R. H. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms. **Water Research**, v. 45, p. 5925 – 5933, 2011.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557–577, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 294– 306, 2007.

CHRISTENSON, L. B.; SIMS, R. C. Rotating Algal Biofilm Reactor and Spool Harvester for Wastewater Treatment with Biofuels By-Products. **Biotechnology and Bioengineering**, 2012.

CRAGGS, R. J.; SUTHERLAND, D.; CAMPBELL, H. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. **Journal of Applied Phycology**, n. 24, p. 329-337, 2012.

DAVIS, R.; ADEN, A.; PIENKOS, P. Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production. **Applied Energy**, v. 88, p. 3524–3531, 2011.

MORAIS, M.G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48(7), p. 2169 – 2173, 2007.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LI'VANSKY', K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella sp.*) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v.17(5), p. 403–12, 2005.

ERIKSEN, N. The technology of microalgal culturing. **Biotechnology Letters**, v. 30, p. 1525 – 1536, 2008.

GARCÍA, J.; MUJERIEGO, R.; HERNANDEZ-MARINÉ, M. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, n. 12, p. 331-339, 2000.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., MOLINUEVO-SALCES, B., GAECÍA-GONZÁLEZ, M. Nitrogen transformations under different conditions in open ponds by means of microalgae-bacteria consortium treating pig slurry. **Bioresource Technology**, 102, 960-966. 2011.

GROSS, M.; HENRY, W.; MICHAEL, C.; WEN, Z. Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 150, p.195 – 201, 2013.

HOH, D.; WATSON, S.; KAN, E. Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 466 – 473, 2016.

JOHNSON, M.; WEN, Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 525 – 534, 2010.

KOMÁREK, J.; FOTT, B. Das Phytoplankton des Süßwassers. Systematik und Biologie. 7. Teil, 1. Hälfte. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chroococcales. 1983. 1041p.

LEE, S. H.; OH, H. M.; JO, B. H.; LEE, S. A.; SHIN, S. Y.; KIM, H. S.; LEE, S. H.; AHN, C. Y. Higher Biomass Productivity of Microalgae in an Attached Growth System, Using Wastewater. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 11, p. 1566 –1573, 2014.

LIANG, Y.; SARKANY, N.; CUI, Y. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. **Biotechnology Letters**, v. 31, p. 1043 – 1049, 2009.

LIU, T. Z.; WANG, J.; HU, Q.; CHENG, P.; JI, B.; LIU, L.; CHEN, Y.; ZHANG, W.; CHEN, W.; CHEN, L.; GAO, L.; JI, C.; WANG, H. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 216 – 222, 2013.

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

MATAMOROS, V.; GUTIÉRREZ, R.; FERRER, I.; GARCÍA, J.; BAYONA, J. M. Capability of microalgae-based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants: A pilot-scale study. **Journal of Hazardous Materials**, v. 288, p. 34 – 42, 2015.

MARKER, A.F.H.; NUSCH, H.; RAI, H.; RIEMANN, B. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusion and recommendations. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 14, p. 91-106, 1980.

NASCIMENTO, J. R. S.; MELO, D. M.; SOUZA, C. D. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios em lagoas de alta taxa de produção de algas. In: XX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 2013, Bento Gonçalves. **Água – desenvolvimento econômico e socioambiental**, ABRH – Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 8 p.

NEDERLANDSE NORM (NEN). NEN 6520. Norma holandesa sobre determinação de clorofila *a* pelo método do etanol, 1981.

NUSH, E. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Arch. Hydrobiolol**, v. 14, p. 14-36, 1980.

OGBONNA, J. C.; TANAKA, H. Cyclic autotrophic / heterotrophic cultivation of photosynthetic cells: a method of achieving continuous cell growth under light / dark cycles. **Bioresource Technology**, v. 65, p. 65 – 72, 1998

OSWALD, W. J. Fundamental factors in stabilization pond design. Proceedings of 3rd Conference on Biological Waste Treatment. Manhattan College, New York, 1960.

OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 542 - 548, 2012.

PARRA, O. A., GONZALEZ, M.; DILLAROSSA, V.; RIVERA, P. & ORELLANA, M. Manual taxonomico del fitoplâncton de águas continentales. V – Chlorophyceae Parte I Volvocales, Tetrasporales, Chlorococcales y Ulothricales. Universidad de Concepcion. 1982.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 61, p. 633 – 639, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 63, n.8, p. 1758 - 1764, 2011.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment and

algal production in high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v.102, p. 35 - 42, 2011.

POSADAS, E.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; SOLTAU, A.; DOMÍNGUEZ, A.; MUÑOZ, R. Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal–bacterial biofilm bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 50 – 58, 2013.

PUTT, R.; SINGH, M.; CHINNASAMY, S.; DAS, K. C. An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO<sub>2</sub> mass transfer. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3240 – 3245, 2011.

ROCHA, E. O.; CALIJURI, M. L.; SANTIAGO, A. F.; ASSIS, L. C.; ALVES, L. G. S. The contribution of conservation practices in reducing runoff, soil loss, and transport of nutrients at the watershed level. **Water Resource Management**, 26, p. 3831 – 3852, 2012.

SANTIAGO, A. F. Avaliação do desempenho de lagoas de alta taxa no tratamento de esgoto pré-desinfestado submetidas a diferentes níveis de radiação solar. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) Universidade Federal de Viçosa. 158p. 2013.

SANTIAGO, A. F., CALIJURI, M. L., ASSEMAN, P. P., CALIJURI, M. C., REIS, A. J. D. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent, **Environmental Technology**, 4, 1877 – 1885. 2013.

SARTORY, D.P.; GROBBELAAR, J.U. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. **Hydrobiologia**, v. 114 (3), p. 177-187, 1984.

SCHENK, P. M.; THOMAS-HALL, S. R.; STEPHENS, E.; MARX, U. C.; MUSSGNUG, J. H.; POSTEN, C.; KRUSE, O.; HANKAMER. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research**, v. 1(1), p. 20 – 43, 2008.

SHEN, Y.; ZHANG, H.; XU, X.; LIN, X. Biofilm formation and lipid accumulation of attached culture of *Botryococcus braunii*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2014.

SCHNURR, P. J.; ESPIE, G. S.; ALLEN, D. G. Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 337 – 344, 2013.

SCHNURR, P. J.; ALLEN, D. G. Factors affecting algae biofilm growth and lipid production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 418 – 429, 2015.

SCHWARZBOLD, A.; BURLIGA, A. L.; TORGAN, L. C. **Ecologia do Perífiton**. São Carlos: RiMa Editora, 2013, 413 p.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, p. 417 – 423, 2007.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 260 – 266, 2014.

SUTHERLAND, D. L., TURNBULL, M. H., CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, 53, 271-281. 2014.

TASTAN, B. E.; DUYGU, E.; ILBAS, M.; DÖNMEZ, G. Utilization of LPG and gasoline engine exhaust emissions by microalgae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 246-247, p. 173-180, 2013.

UTHERMÖL, H. Zur vervollkomnung der quantitativen phytoplankton - methodic mitt. **Int. Ver. Limnol**, v.9, p.1-38, 1958.

VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural water. **Marine Chemistry**, v.10, p.109-122, 1981.

VALDÉS, F.J.; HERNÁNDEZ, M.R.; CATALÁ, L.; MARCILLA, A. Estimation of CO<sub>2</sub> stripping/CO<sub>2</sub> microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to *Nannochloropsis oculata* microalgae culture. **Bioresource Technology**, 119, p. 1–6, 2012.

VICENTE, M. J. G. Captura de CO<sub>2</sub> mediante algas unicelulares. Trabajo fin de carrera, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica De Madrid, Madrid, 2010.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29 – 37, 1934.

WOERTZ, I. C., FULTON, L., LUNDQUIST, T. J. Nutrient removal and greenhouse gas abatement with CO<sub>2</sub>-supplemented algal high rate ponds. WEFTEC anual conference, **Water Environment Federation**, Orlando, Florida. 2009.

XIN, L.; HONG-YING, H.; JIA, Y. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluente. **New Biotechnology**, 27(1), 2010.

ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource nutrient immobilization in Technology**, v. 130, p.152-160, 2013.

## 7. CAPÍTULO II: OTIMIZAÇÃO DO CULTIVO DE MICROALGAS E REMOÇÃO DE POLUENTES EM SISTEMAS HÍBRIDOS

### Resumo

Este estudo avaliou a otimização do cultivo de microalgas e a eficiência de remoção de nutrientes do esgoto doméstico em sistemas híbridos, constituídos de lagoas de alta taxa e reatores de crescimento de biofilme. O desempenho dos sistemas híbridos foi comparado a uma lagoa de alta taxa (LAT) convencional. As produtividades de clorofila *a* nos sistemas híbridos variaram de 0,10 a 0,21 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>, e na LAT convencional foi entre 0,12 a 0,25 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. As produtividades lipídica dos biofilmes foram na faixa de 1,9 a 7,1 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. Quanto à eficiência de consumo de CO<sub>2</sub>, os sistemas híbridos apresentaram rendimentos de, aproximadamente, 0,03 – 0,17%. A concentração média da biomassa nos biofilmes foi entre 82 a 182 Kg.m<sup>-3</sup>, em base seca. Essa concentração permitiu realizar a colheita do biofilme por raspagem de forma fácil e simples, fazendo dos sistemas híbridos um diferencial no tratamento de esgoto doméstico e na produção e colheita da biomassa.

**Palavras-chave:** biofilme algal; colheita de biomassa; consumo de CO<sub>2</sub>; cultivo aderido; tratamento de esgoto doméstico.

## 7.1 Introdução

A produção de microalgas em águas residuárias é considerada uma ótima oportunidade, do ponto de vista ambiental e econômico, de produção de biomassa a ser utilizada em diversos contextos, dentre eles energético e agrícola, por exemplo.

As lagoas de alta taxa (LATs) são os reatores abertos mais comuns que integram o cultivo algal e tratamento de águas residuárias. As LATs apresentam diversas vantagens que incluem simplicidade e baixo custo operacional, remoção de patógenos e recuperação de nutrientes em forma de biomassa para posterior aproveitamento (CRAGGS et al., 2012). Além disso, os custos relativos à produção, operação e colheita são, praticamente, cobertos pelos recursos das estações de tratamento de efluentes (PARK et al., 2011).

Entretanto, uma das principais dificuldades relativas ao cultivo algal em LATs é a separação de biomassa. A conciliação de um sistema econômico de separação da biomassa algal com elevada produtividade de biomassa algal se faz muito interessante, principalmente, em sistemas operacionais de grande escala. Os custos de processamento da colheita algal podem ser reduzidos com a aplicação dos sistemas de biofilmes, mas essa abordagem em escala real ainda é pouco estudada, quando comparadas aos meios de cultivos em suspensão (CHRISTENSON e SIMS, 2012).

Alguns estudos, em escala laboratorial, vêm sendo desenvolvidos para otimizar a colheita algal por meio de imobilização da biomassa a um meio suporte, tendo águas residuárias como meio de cultivo (JOHNSON e WEN, 2010; POSADAS et al., 2013, SHI et al., 2014). No âmbito de cultivo de biofilmes em LATs, os trabalhos de Christenson e Sims (2012), Gross et al. (2013) e Lee et al. (2014) demonstraram que a integração dos sistemas de cultivos suspenso e aderido proporcionaram maiores produtividades algal, em relação às LATs convencionais, e a colheita da biomassa foi realizada de forma simples e econômica.

O esgoto doméstico contém baixos teores de carbono para satisfazer a demanda algal. O fornecimento e a transferência de CO<sub>2</sub> para o meio de cultivo são importantes para otimizar a produção de biomassa (KETHEESAN e NIRMALAKHANDAN, 2012). O uso de CO<sub>2</sub> puro possui custos muito elevados e a adição de emissões atmosféricas de combustão nas LATs tem sido uma

alternativa para suprir a falta de carbono para produção de microalgas durante o tratamento de esgotos, buscando atender o conceito de biorrefinaria e sustentabilidade.

O presente trabalho buscou avaliar a produção de microalgas e a remoção de poluentes do esgoto doméstico em sistemas híbridos, com e sem suplementação de CO<sub>2</sub>, em relação a uma LAT convencional com adição de CO<sub>2</sub>.

## **7.2 Material e Métodos**

### *7.2.1 Área de estudo*

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

### *7.2.2 Unidade experimental e operação*

Foram avaliados três sistemas para o tratamento de esgoto doméstico e produção algal. O sistema híbrido 1 foi composto por uma lagoa de alta taxa (LAT 1) com suplementação de CO<sub>2</sub> e um reator de crescimento de biofilme (biofilme 1). O sistema híbrido 2 constituiu-se de uma LAT (LAT 2), sem adição de CO<sub>2</sub>, e um reator de crescimento de biofilme (biofilme 2). A LAT com adição de CO<sub>2</sub> foi avaliada como o sistema 3 (LAT 3). O meio de cultivo utilizado foi esgoto doméstico proveniente de um reator Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), em escala real, com vazão média de 115 m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup> e tempo de detenção hidráulica (TDH) de 7 h.

As LATs possuem as seguintes características: largura: 1,28 m; comprimento: 2,86 m; profundidade total: 0,5 m; profundidade útil: 0,3 m; área superficial: 3,3 m<sup>2</sup>; volume útil: 1 m<sup>3</sup>. As LATs foram confeccionadas em fibra

de vidro e as pás em PVC, com duas lâminas. As pás foram movimentadas por correntes ligadas a um motor elétrico de 1 cv. A rotação foi reduzida por um redutor acoplado ao motor e controlada por um inversor de frequência (marca WEG série CFW-10), que garantiram velocidade de, aproximadamente, 0,10 a 0,15 m.s<sup>-1</sup>. As LATs operaram em fluxo contínuo com vazão de 0,2 m<sup>3</sup>.dia<sup>-1</sup> e TDH de 5 dias.

Os reatores de crescimento de biofilme foram constituídos por um painel plano vertical de 1,0 m<sup>2</sup> (0,5 m<sup>2</sup> de cada lado do painel), revestido por um material suporte para o crescimento algal, comumente chamado de entretela tecido (Entrevin, E460, 100% algodão) e usado na fabricação de roupas. A escolha do material e do tipo de reator foi baseada Vicente (2010).

Os reatores ficaram dispostos verticalmente ao lado das LATs, apoiados em um suporte confeccionado de tubos de PVC, diretamente em contato com o ar atmosférico e radiação solar. Os efluentes das LATs foram recirculados aos painéis no período diurno, por uma moto bomba submersa (Sarlobetter SB 1000A) de vazão 1 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>, potência de 13 W e capacidade de coluna d'água de 2,0 m. Depois de bombeados, os efluentes percorreram por gotejamento a área superficial dos painéis e foram recolhidos por uma calha e retornados às LATs por gravidade.

Os três sistemas avaliados estão apresentados na Figura 7.1.



Figura 7.1 – Posicionamento dos três sistemas avaliados: (1) sistema híbrido 1 com suplementação de CO<sub>2</sub>; (2) sistema híbrido 2; (3) LAT com suplementação de CO<sub>2</sub>.

Os sistemas foram operados de 28 de maio a 24 de agosto de 2015 (Período I, 89 dias) com adição de CO<sub>2</sub> sintético em cilindro de gás com 99% de pureza, nas LATs 1 e 3. No segundo período, 20 de setembro a 19 de

novembro de 2015 (Período II, 61 dias), foram adicionadas às LATs 1 e 3, emissões gasosas provenientes da combustão da gasolina comum, em substituição ao CO<sub>2</sub> sintético. A combustão da gasolina foi realizada através de um gerador de energia a gasolina (Schulz, S5500MG) acoplado a um compressor de ar (Schulz, SCSL 10 BR/200), onde o gás da combustão ficou armazenado e, posteriormente, adicionado às LATs.

O controle da suplementação de CO<sub>2</sub> foi realizado através da variação do pH. Quando os valores de pH se aproximavam de 8,0, os gases foram adicionados às LATs através de uma coluna de carbonatação. A coluna de carbonatação foi construída de PVC e arquitetada de acordo com o Putt et al. (2011), apresentando a altura de 2,20 m e 0,10 m de diâmetro. A vazão de recirculação do efluente da LAT através da coluna de carbonatação foi 4 L.min<sup>-1</sup> e foi feita por uma moto bomba submersa (marca Sarlobetter SB 1000A). O controle da vazão dos gases foi realizado por fluxômetros com capacidade de 0 a 15 L/min, sendo que no período I, a vazão de adição foi 1 L.min<sup>-1</sup> e 3 L.min<sup>-1</sup> no período II.

### *7.2.3 Produção de biomassa, tratamento de esgoto e condições ambientais*

Para obtenção das variáveis de tratamento de esgoto e produção algal nas LATs foram coletadas, duas vezes por semana, amostras compostas de 250 mL realizadas a cada 2h (do período de 8:00h até 16:00h). Para caracterização do afluente às LATs, obtenção da clorofila *a* e *Escherichia coli*, foram coletadas amostras simples às 16:00h. Análises incluindo alcalinidade total (Alc) (2320B), sólidos suspensos totais (SST) (2540D), sólidos suspensos voláteis (SSV) (2540E), demanda química de oxigênio solúvel (DQO<sub>s</sub>) (5220D amostras filtradas a 0,45 µm), nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (4500 – NH<sub>3</sub>C), nitrogênio total kjeldahl (NTK) (4500-N D), nitrato (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (4500-NO<sub>3</sub>A) e fósforo solúvel (P<sub>s</sub>) (4500 P C - amostras filtradas a 0,45 µm) foram efetuadas de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2012). O nitrogênio orgânico (Norg) foi obtido pela diferença entre NTK e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. O carbono total solúvel (CT<sub>s</sub>), carbono orgânico total solúvel (COT<sub>s</sub>) e carbono inorgânico solúvel (CI<sub>s</sub>) foram obtidos usando o analisador Shimadzu TOC 5000. A análise de clorofila *a* foi realizada utilizando-

se técnica de extração com etanol 80% a quente como descrito em norma holandesa (NEN, 1981), com base em Nush (1980). O método cromogênico-fluorogênico (Colilert®) foi usado para analisar *Escherichia coli* (*E. coli*).

Adicionalmente, nas datas de amostragem, foram monitorados oxigênio dissolvido (OD), temperatura e pH no meio de cultivo da LAT, através da sonda Hach HQ40d (Luminescent Dissolved Oxygen–LDO–para OD) e foram mensuradas as radiações fotossinteticamente ativa (PAR) incidente utilizando o radiômetro LI-COR LI-193 Underwater Spherical Quantum Sensor. Estas medições acompanharam o intervalo de 2 horas de coleta.

#### 7.2.4 Caracterização do biofilme

A coleta da biomassa nos painéis começou no 7º dia de operação. A partir desse dia, foram realizadas raspagens a cada, aproximadamente, 48h. Foram coletadas, por raspagem, amostras compostas de seis posições da área superficial do painel (amostra do lado direito, do lado esquerdo e do meio, frente e verso do painel).

As amostragens foram utilizadas para quantificação da biomassa total, através das análises de sólidos totais voláteis (STV) (APHA, 2012), sendo que a área raspada de cada posição do painel foi de 6,25 cm<sup>2</sup>. Para a quantificação da biomassa algal, através da clorofila *a*, foram raspadas áreas de 1,0 cm<sup>2</sup> de cada posição do painel. A leitura da clorofila *a* foi determinada por espectrofotometria (APHA, 2012), e os cálculos foram determinados usando a equação de Schwarzbald et al. (2013), adaptada de Marker et al. (1980) e Sartory e Grobbelaar (1984) (Equação 7.1).

$$\text{Clorofila } a \text{ } (\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}) = \frac{(E_b - E_a) \cdot (R/R - 1) \cdot k \cdot v}{S \cdot L} \quad \text{Equação 7.1}$$

Em que:

$E_b$ : absorvância do extrato a 665 nm menos a absorvância a 750 nm, antes da acidificação

$E_a$ : absorvância do extrato a 665 nm menos a absorvância a 750 nm, após da acidificação

$R$ : 1,72 (razão de rendimento da clorofila *a* não acidificada, conforme Wetzel e Likens (2000))

R/R – 1: 2,39

k: coeficiente de absorção da clorofila a (para etanol), em que  $k_{\text{etanol } 80\%}$   
= 27,9

v (mL): volume do solvente utilizado (etanol)

L (cm): comprimento do caminho óptico através da cubeta (1 cm)

S (cm<sup>2</sup>): área total raspada do substrato

Através da curva de clorofila a, acompanhou-se a produção algal no reator de crescimento de biofilme. Ao perceber o pico e o posterior decaimento de produção algal, a raspagem do painel foi realizada e caracterizou-se um ciclo de crescimento do biofilme. Cada período obteve dois ciclos de crescimento, portanto, foram realizadas duas raspagens em cada período. O número de dias de cada ciclo de crescimento dos biofilmes estão apresentados na Tabela 7.1.

Tabela 7.1 – Duração de cada ciclo de crescimento dos biofilmes.

Ciclos de crescimento de biofilme	Período I (dias)		Período II (dias)	
	Biofilme 1	Biofilme 2	Biofilme 1	Biofilme 2
1	42	47	33	37
2	49	44	26	21

Ao final de cada ciclo de crescimento do biofilme, os teores de carbono (WALKLEY e BLACK, 1934), nitrogênio (APHA, 2012) e fósforo (VALDERRAMA, 1981) foram determinados. Também foram calculados para o biofilme, usando os dados da coleta de sólidos totais, a concentração da biomassa (Kg.m<sup>-3</sup>) e o teor de umidade (%).

#### 7.2.5 Quantificação lipídica

O conteúdo lipídico também foi determinado ao final de cada ciclo de crescimento. O biofilme colhido foi secado em estufa a 50°C durante 24 h, depois foi macerado e mantido no dessecador. A análise do conteúdo de lipídeos consistiu na pesagem da biomassa (0,1 g) para posterior rompimento da parede celular, com adições de 5 mL de HCL 3M, 4 mL de éter de petróleo e 25 mL de metanol. A mistura foi aquecida na chapa por 15 minutos, à 60 ° C. Foram realizadas 3 extrações via solvente, realizadas em funis de separação.

Em cada extração foram adicionados 20 mL de éter de petróleo. Após a extração, o óleo extraído foi lavado com 10 mL de acetato de chumbo 4% para remover as impurezas e pigmentos. O conteúdo lipídico foi determinado por gravimetria com evaporação do solvente em chapa aquecedora à 60 °C e posterior secagem em estufa por 1 hora a 105 °C. O teor lipídico foi determinado em triplicata para cada amostra de cada ciclo de crescimento do biofilme.

O teor lipídico foi calculado de acordo com a Equação 7.2.

$$\text{Teor lipídico (\%)} = 100 * \frac{(\text{peso do recipiente cheio}) - (\text{peso do recipiente vazio})}{(\text{peso da biomassa seca})}$$

Equação 7.2

A produtividade lipídica foi obtida multiplicando-se a produtividade de biomassa total (g STV. m<sup>-2</sup> . dia<sup>-1</sup>) pelo teor lipídico do biofilme, obtidos em cada ciclo de crescimento de biofilme.

#### 7.2.6 Comunidade fitoplanctônica

Ao final de cada ciclo de crescimento do biofilme, foram coletadas 200 mL de amostras da superfície das LATs e 25 cm<sup>2</sup> de seis posições de cada painel. As amostras foram conservadas em solução de formol 4% e foram destinadas à caracterização fitoplanctônica, que foi realizada em nível de gênero, e para o gênero dominante, foram identificadas as espécies presentes.

A contagem de indivíduos foi feita em câmara de sedimentação em Microscópio Invertido, pelo método de Uthermöhl (1958), a densidade dos organismos foi determinada utilizando os critérios descritos em APHA (2005). A identificação foi realizada de acordo com Parra et al. (1982) e Komarek e Fott (1983).

#### 7.2.7 Consumo de CO<sub>2</sub>

A taxa de fixação de CO<sub>2</sub> por unidade de cultura, F<sub>CO<sub>2</sub></sub> (gCO<sub>2</sub>.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>), foi estimada pela Equação 7.3:

$$F_{CO_2} = \alpha P_b$$

Equação 7.3

Em que,  $P_b$  é a produtividade da biomassa ( $g \cdot m^{-2} \cdot dia^{-1}$ ) e  $\alpha$  é a massa de  $CO_2$  fixada por unidade de biomassa, considerando 50% de carbono na biomassa seca (Becker, 1994):

$$\alpha = 0,5 \left( \frac{44}{12} \right) = 1,833$$

E a eficiência de consumo de  $CO_2$ ,  $\eta$  (%), foi estimada pela equação 7.4:

$$\eta = \frac{1,833 P_b}{q} 100\%$$

Equação 7.4

Em que, 0,5 é o conteúdo de carbono na massa seca (g de carbono/g de biomassa), 44 e 12 são as massas moleculares do  $CO_2$  e do carbono, e  $q$  é a taxa de  $CO_2$  fornecida a cultura algal ( $gCO_2 \cdot m^{-2} \cdot dia^{-1}$ ).

Nesse estudo, foi considerada como  $P_b$  a produtividade de clorofila *a* obtida em cada sistema de cultivo.

## 7.3 Resultados e discussão

### 7.3.1 Condições ambientais

A Figura 7.2 apresenta o comportamento diurno da PAR, nos dois períodos de monitoramento.

Os comportamentos diurnos da PAR, da temperatura e do OD no meio de cultivo das LATs foram semelhantes e influenciadas pela estação do ano em que ocorreram. O período I ocorreu no início da estação mais fria do ano, o inverno. O período II ocorreu na estação da primavera, época em que a temperatura ambiente é maior e os dias são mais longos e quentes. Portanto, maiores valores dessas variáveis foram observados nesse período.

As médias da PAR e temperatura aumentaram no período II, respectivamente,  $358 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  e  $6^\circ C$ , em relação ao período I (Figuras 7.2a,b). O comportamento diário da temperatura, durante o período II (Figura 7.2c), esteve dentro da faixa de temperatura ótima para o crescimento de microalgas, que é de 20 a  $30^\circ C$  (POSADAS et al., 2015).

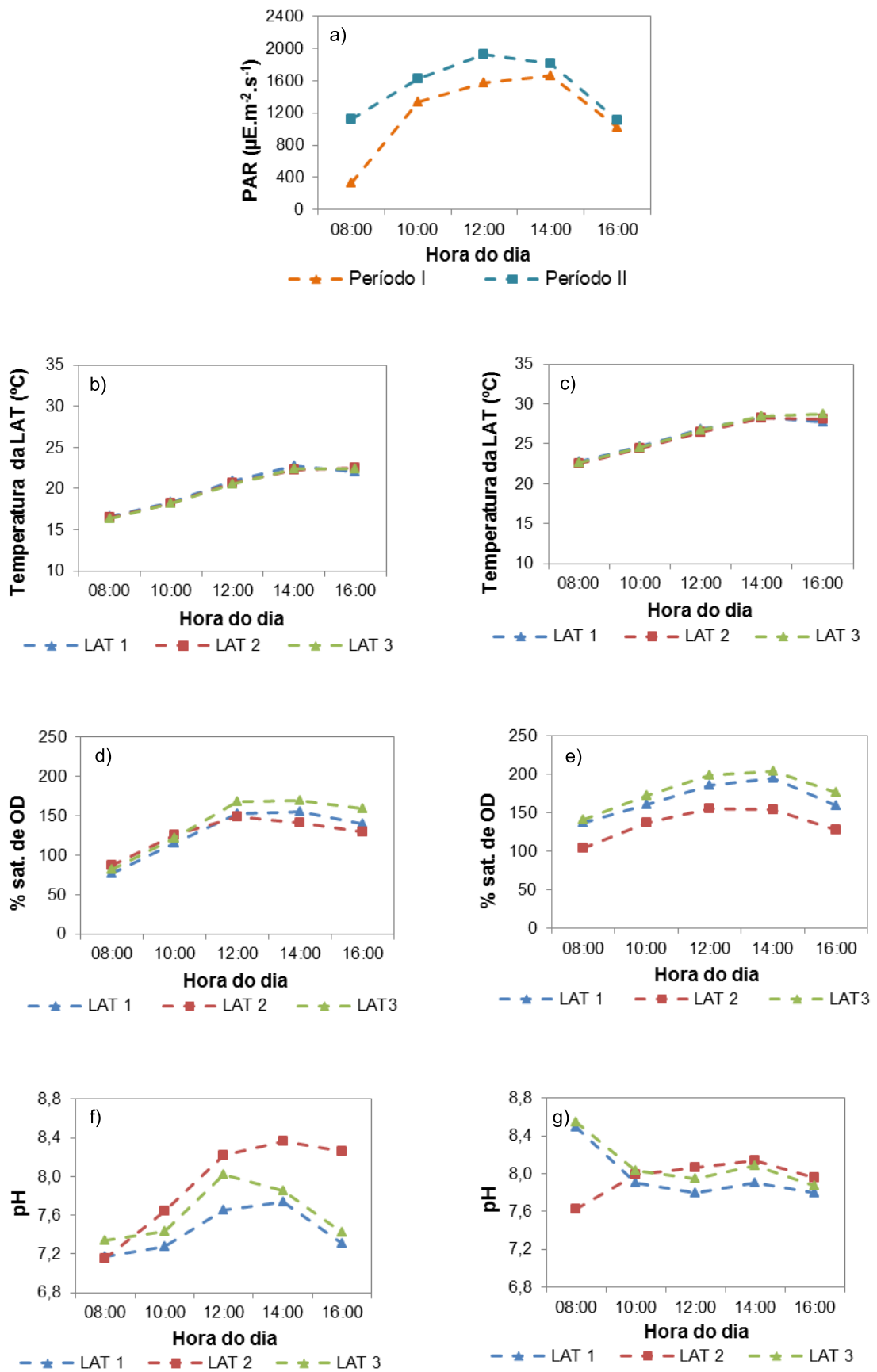


Figura 7.2 – Comportamento diurno (média de todos os dias de coleta): (a) radiação fotossinteticamente ativa (PAR) nos dois períodos; (b) temperatura

das LATs no período I; (c) temperatura das LATs no período II; (d) oxigênio dissolvido (OD) no período I; (e) oxigênio dissolvido (OD) no período II; (f) pH no período I; (g) pH no período II.

Do mesmo modo, as saturações máximas de OD foram maiores no período II, sendo 195, 155 e 204% (Figura 7.2d), contra 153, 148 e 167% no período I (Figura 7.2e), respectivamente, para as LATs 1, 2 e 3. Como esperado, as saturações de OD foram maiores para as LATs 1 e 3, que tiveram complementação de CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, maior consumo deste pelas microalgas e maior geração de O<sub>2</sub> como produto da fotossíntese.

O aumento do pH das LATs nos horários de maior radiação solar, entre 12:00h e 14:00h, ocorreu devido a atividade fotossintética que se intensifica nesse período, interferindo no consumo de carbono inorgânico e, conseqüentemente, na variação do pH. No final da tarde, as LATs que tiveram suplementação de CO<sub>2</sub> (LATs 1 e 3) apresentaram controle do pH entre 6,8 e 8,1. Ao contrário da LAT 2, em que o seu pH manteve-se crescente até às 16:00h (Figura 7.2f).

O pH das LATs 1 e 3, no período II, foi mais alto no início da manhã. No período noturno não houve adição de CO<sub>2</sub>. A predominância da respiração durante a noite aumentou a concentração de CO<sub>2</sub>, e devido a troca gasosa facilitada pelos movimentos dos pedais pode ter ocorrido desprendimento de CO<sub>2</sub> para a atmosfera, aumentando o pH do meio (Figura 7.2g). O desprendimento de CO<sub>2</sub> durante a noite e nas primeiras horas do dia já foi relatado por alguns autores (VÁLDES et al., 2012; ARBIB et al., 2013), que também trabalharam com suplementação de CO<sub>2</sub> ao meio de cultivo e concluíram o motivo da perda de CO<sub>2</sub> estar associada a trocas gasosas através dos fluxos de injeção de gases nos fotobiorreatores tubulares.

No período II, o pH foi controlado pela adição das emissões provenientes da combustão da gasolina. A vazão de gás foi 3 L.min<sup>-1</sup> contra 1 L.min<sup>-1</sup> da adição de gás com 99% de CO<sub>2</sub>, no período I. Apesar da vazão de gás ter sido maior no segundo período, a concentração de CO<sub>2</sub> nas emissões da combustão da gasolina é apenas 12% (TASTAN et al., 2013) somado a presença de outros gases. A composição do gás de combustão utilizado fez com que o controle do pH fosse realizado de forma mais lenta, quando comparado com o controle do período 1. Portanto, os valores de pH não variaram muito e ficaram próximos a 8,0 nas LATs 1 e 3 (Figura 7.2g). Além

disso, a PAR nesse período favoreceu a melhor produtividade algal, ocasionando maior e mais rápido consumo de CO<sub>2</sub> do meio e, conseqüentemente, o pH se manteve mais elevado.

### *7.3.2 Remoção de poluentes do esgoto doméstico*

As variáveis médias de qualidade dos afluentes e dos efluentes às LATs estão apresentadas na Tabela 7.2. As relações C:N:P dos afluentes e dos efluentes foram obtidas com os resultados das análises de CT, NTK e P<sub>s</sub> (Tabela 7.2). Nos períodos I e II, os afluentes apresentaram relação C:N:P de, aproximadamente, 21:10:1 e 23:11:1, respectivamente.

As relações C:N:P, no período I, foram 9:4:1, 7:4:1 e 11:6:1, respectivamente nos sistemas híbridos 1 e 2, e na LAT 3. No período II, foram 17:5:1 para o sistema híbrido 1, 9:2:1 para o sistema híbrido 2 e 17:4:1 para a LAT 3. Zamalloa et al. (2013) e Shi et al. (2014) cultivaram biofilme durante o tratamento de esgoto doméstico e encontraram relações N:P de, aproximadamente, 5:1 e 7:1, respectivamente. Shi et al. (2014) concluíram que o fósforo e o nitrogênio podem ser removidos na escala de 70 a 99% durante o tratamento com esgoto doméstico utilizando biofilmes. Shi et al. (2007) obtiveram relação nitrogênio amoniacal e fosfato de 4:1, enquanto Boelee et al. (2011) obtiveram relações C:N:P de 50:5:1. Ambos autores cultivaram biofilme algal em meios sintéticos.

A remoção de carbono orgânico total solúvel (COT<sub>s</sub>), durante o período I, foi 45% (LAT 1), 58% (LAT 2) e 53% (LAT 3) e, no período II, 21% (LAT 1), 31% (LAT 2) e 27% (LAT 3). Como no período II, o pH se manteve mais elevado em todo o período diurno, o estabelecimento de microrganismos que promovem a degradação da matéria orgânica pode ter sido afetado. Fato esse que pode ser notado pelas remoções de DQO<sub>s</sub> que foram mais baixas no período II: 9% (LAT 1), 22% (LAT 2) e 22% (LAT 3), em relação ao período I: 27% (LAT 1), 33% (LAT 2) e 46% (LAT 3). Além disso, como nas LATs 1 e 3 houve adição de gases da combustão da gasolina durante o período II, algum componente desses gases podem ter inibido o desenvolvimento bacteriano.

Tabela 7.2 – Caracterização dos afluentes e dos efluentes às LATs, em cada período de monitoramento (média e desvio padrão).

	Período I				Período II			
	Afluente	LAT 1	LAT 2	LAT 3	Afluente	LAT 1	LAT 2	LAT 3
Alc (mg/L)	309,8 (40,5)	89,0 (88,8)	71,2 (86,3)	104,3 (87,5)	322,5(60,4)	168,7(63,7)	68,5 (50,1)	177,9(64,3)
DQO <sub>s</sub> (mg/L)	116,0(111,5)	85,0 (65,4)	78,0 (74,9)	62,2 (26,5)	98,5 (37,4)	89,4 (67,5)	77,1 (20,1)	76,9 (32,8)
CT <sub>s</sub> (mg/L)	109,4 (14,5)	36,4 (27,4)	30,8 (18,5)	42,4 (23,7)	118,1(23,7)	63,1 (18,4)	37,8 (15,4)	67,9 (21,9)
COT <sub>s</sub> (mg/L)	43,1 (17,0)	23,8 (20,7)	18,3 (4,3)	20,2 (6,0)	37,4 (12,3)	29,5 (4,9)	25,8 (5,6)	27,2 (7,0)
NTK (mg/L)	50,5 (22,0)	16,8 (13,1)	16,6 (10,4)	23,0 (14,3)	54,6 (39,2)	19,9 (20,9)	6,9 (7,4)	15,9 (9,6)
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	37,3 (13,9)	7,9 (10,4)	6,1 (6,1)	11,5 (11,0)	35,8 (17,5)	10,8 (10,9)	9,0 (7,5)	11,7 (8,6)
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	1,6 (1,2)	42,0 (41,5)	29,9 (24,1)	17,8 (21,8)	0,7 (0,7)	5,6 (6,4)	24,8 (13,9)	4,9 (4,8)
P <sub>s</sub> (mg/L)	5,2 (0,9)	3,9 (1,0)	4,1 (1,0)	3,8 (1,0)	5,1 (1,9)	3,6 (1,7)	4,1 (1,5)	3,9 (1,2)
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100mL)	2,6E+05 (6,5E+05)*	5,2E+03 (2,5E+06)*	7,0E+03 (9,9+05)*	1,2E+04 (2,5+06)*	4,7E+04 (1,1+06)*	1,4E+03 (1,3+04)*	1,6E+03 (6,2+03)*	5,0E+03 (6,8+03)*

\*média geométrica (desvio padrão).

Nos sistemas híbridos 1 e 2, parte da remoção de poluentes foi associada ao biofilme e outra parte às LATs. Na LAT 3, a remoção esteve associada somente ao meio suspenso da lagoa, mesmo assim essa lagoa apresentou eficientes remoções de  $COT_s$  e  $DQO_s$ .

Observou-se satisfatória remoção de nitrogênio amoniacal, 79%, 84% e 69%, respectivamente, para as LATs 1, 2 e 3, no período I. Enquanto no período II, as remoções foram menores: 70% na LAT 1, 75% na LAT 2 e 67% na LAT 3. Nos dois períodos, a LAT 2 apresentou as maiores remoções de nitrogênio amoniacal. Além da assimilação algal, a volatilização da amônia também ocorreu, uma vez que nessa LAT não houve controle do pH. Observa-se que na LAT 3, as remoções de nitrogênio amoniacal foram menores.

Os valores médios de nitrato durante o período II foram menores do que no período I, especialmente nas LATs 1 e 3. A presença de outros gases componentes da combustão da gasolina pode ter interferido no desenvolvimento das bactérias nitrificantes. Os valores de nitrato do segundo período estão próximos a faixa de 4,5 – 17,0  $mg.L^{-1}$  encontrada na literatura (GARCÍA et al., 2000; NASCIMENTO et al., 2013; SANTIAGO et al., 2013), enquanto do primeiro período estão superiores. O estudo de González-Fernández et al. (2011) avaliou o tratamento de efluente anaeróbico em lagoas com produção de microalgas e a concentração de nitrato obtida foi de 80  $mg/L$ . Os autores consideraram a nitrificação como principal processo de transformação da amônia e justificaram que a matéria orgânica não facilmente biodegradada no efluente anaeróbico induziu as bactérias a realizarem nitrificação ao invés de oxidação da matéria orgânica.

Como nos dois períodos de monitoramento, houve controle do pH nas LATs 1 e 3, a remoção de fósforo nessas LATs é atribuída a assimilação pela biomassa algal. Na LAT 2, além da assimilação algal, a remoção pode estar associada a precipitação de fósforo, uma vez que nessa LAT não houve controle do pH com suplementação de  $CO_2$  e esta atingiu valores de pH acima de 8,0. A faixa de remoção de todas as LATs em ambos os períodos foi entre 20 a 30%. Essas remoções foram consideradas razoavelmente baixas. Nascimento et al. (2013), Santiago et al. (2013) e Craggs et al. (2012), encontraram remoções próximas a 32%, 14% e 14 - 24,4%, respectivamente. Craggs et al. (2012) consideraram que a pouca remoção pode estar

relacionada a baixa concentração de fósforo do esgoto doméstico afluente.

As remoções de *Escherichia coli* nas LATs 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 2, 2 e 1 unidades logarítmicas para ambos os períodos. Esses valores estão próximos a faixa de resultados encontrado por Craggs et al. (2012) e Santiago et al. (2013), 1 e 2 unidades logarítmicas. A presença do biofilme acoplado às LATs 1 e 2 pode ter favorecido a maior remoção nesses sistemas através da retenção desses microrganismos na biomassa e da maior disposição a luz e aos raios ultravioletas.

### 7.3.3 Produtividade de biomassa

A Tabela 7.3 apresenta as produtividades médias nos sistemas de cultivos durante os dois períodos de monitoramento.

Tabela 7.3 – Produtividade total e de clorofila *a* nos sistemas de cultivos (média e desvio padrão).

	Produtividade total (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )			Produtividade clorofila <i>a</i> (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )		
	Cultivo suspenso	Biofilme	Total*	Cultivo suspenso	Biofilme	Total*
<i>Período I</i>						
Sistema híbrido 1	5,917 (2,707)	0,865 (0,321)	5,260	0,137 (0,064)	0,010 (0,006)	0,120
Sistema híbrido 2	5,822 (2,134)	1,175 (0,745)	5,218	0,120 (0,070)	0,009 (0,007)	0,106
LAT 3	6,275 (2,351)	-	6,275	0,128 (0,063)	-	0,128
<i>Período II</i>						
Sistema híbrido 1	9,011 (4,710)	1,164 (1,029)	7,991	0,236 (0,074)	0,014 (0,014)	0,207
Sistema híbrido 2	6,416 (3,832)	0,959 (1,232)	5,707	0,150 (0,052)	0,008 (0,007)	0,132
LAT 3	10,597 (6,934)	-	10,597	0,251 (0,085)	-	0,251

\*as produtividades totais de cada ciclo foram determinadas através do cálculo de média aritmética ponderada.

A produtividade da biomassa total elevou-se em, aproximadamente, 52, 9 e 69%, e da biomassa algal, 72, 25 e 96%, respectivamente, para os sistemas híbridos 1 e 2, e para a LAT 3. As condições ambientais no período II, como maiores valores de PAR e temperatura do meio de cultivo,

favoreceram as maiores produtividades nesse período.

Os resultados de produtividades obtidos nesse estudo foram inferiores aos relatados em outras pesquisas que avaliaram o cultivo de biofilmes adaptados a LATs. Christenson e Sims (2012) usaram tranças de algodão (107 m) como meio suporte para aderência das microalgas em um reator de biofilme algal rotativo adaptado a uma LAT (3 m<sup>2</sup>), tendo como meio de cultivo o esgoto doméstico. A produtividade média do biofilme foi 20 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. Os autores coletaram a biomassa do sistema híbrido somente na forma de biofilme.

Gross et al. (2013) estudaram o crescimento aderido de microalgas, cultivadas na superfície de tecido de algodão (3,5 m<sup>2</sup>). Esses autores, entretanto, não utilizaram esgoto doméstico como meio de cultivo. O meio suporte manteve-se em rotação entre o meio de cultura sintético inoculado com *Chlorella vulgaris* em uma LAT (24 m<sup>2</sup>) e em contato com o CO<sub>2</sub> atmosférico. Os resultados demonstraram que a produtividade com base na vista da área superficial da lagoa foi, em média, 1,3 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup> e 9,8 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>, respectivamente, para biomassa algal suspensa e para o biofilme algal. A produtividade da superfície total do material de fixação foi cerca de 1,9 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup> no primeiro ciclo de crescimento e 4,3 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup> no pós crescimento.

Lee et al. (2014) avaliaram sistema aderido de algas a várias malhas de nylon (área total de 33,1 m<sup>2</sup>) inseridas no interior de uma LAT (20,6 m<sup>2</sup>) durante o tratamento de esgoto doméstico. A produtividade encontrada no sistema (9,1 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>) foi 2,8 vezes mais elevada do que uma LAT convencional. Os autores relataram que a colheita de biomassa aderida foi realizada de forma mais simples e mais barata, e o esgoto doméstico tratado remanescente poderia ser descartado diretamente aos corpos hídricos.

A Figura 7.3 apresenta as relações (%) entre clorofila *a* e sólidos voláteis nos sistemas de cultivo, durante os dois períodos de monitoramento.

Segundo Veloso et al. (1991), relações entre clorofila *a* e SSV entre 1 e 1,5% indicam boa proporção da cultura algal com a biomassa total. Relações inferiores dizem respeito a uma biomassa algal sujeita a *stress*, com competição por nutrientes e predação.

Para todas as LATs, a relação clorofila *a* / SSV oscilou entre 1,5 a 2,7%, no período I, e 1 a 4,5%, no período II (Figuras 7.3a,b). Todas as LATs apresentaram boa proporção de biomassa algal na biomassa total: no período

I foram 2,28% (LAT 1), 1,96% (LAT 2) e 1,98% (LAT 3) e no período II, 2,48% (LAT 1), 1,96% (LAT 2) e 2,09% (LAT 3).

Pela Figuras 7.3c,d, observa-se que a proporção de clorofila *a* e STV nos biofilmes 1 e 2 oscilou entre 0 a 2,2 %. O biofilme 1 mostrou ter uma biomassa algal mais rica, com relação média de 1,1 e 1,2%, para os períodos I e II, respectivamente. O biofilme 2, entretanto, apresentou relação média de 0,7% no período I e 0,8% no período II, indicando maior contribuição de organismos heterotróficos, como bactérias e protozoários, do que algas nesse meio de cultivo.

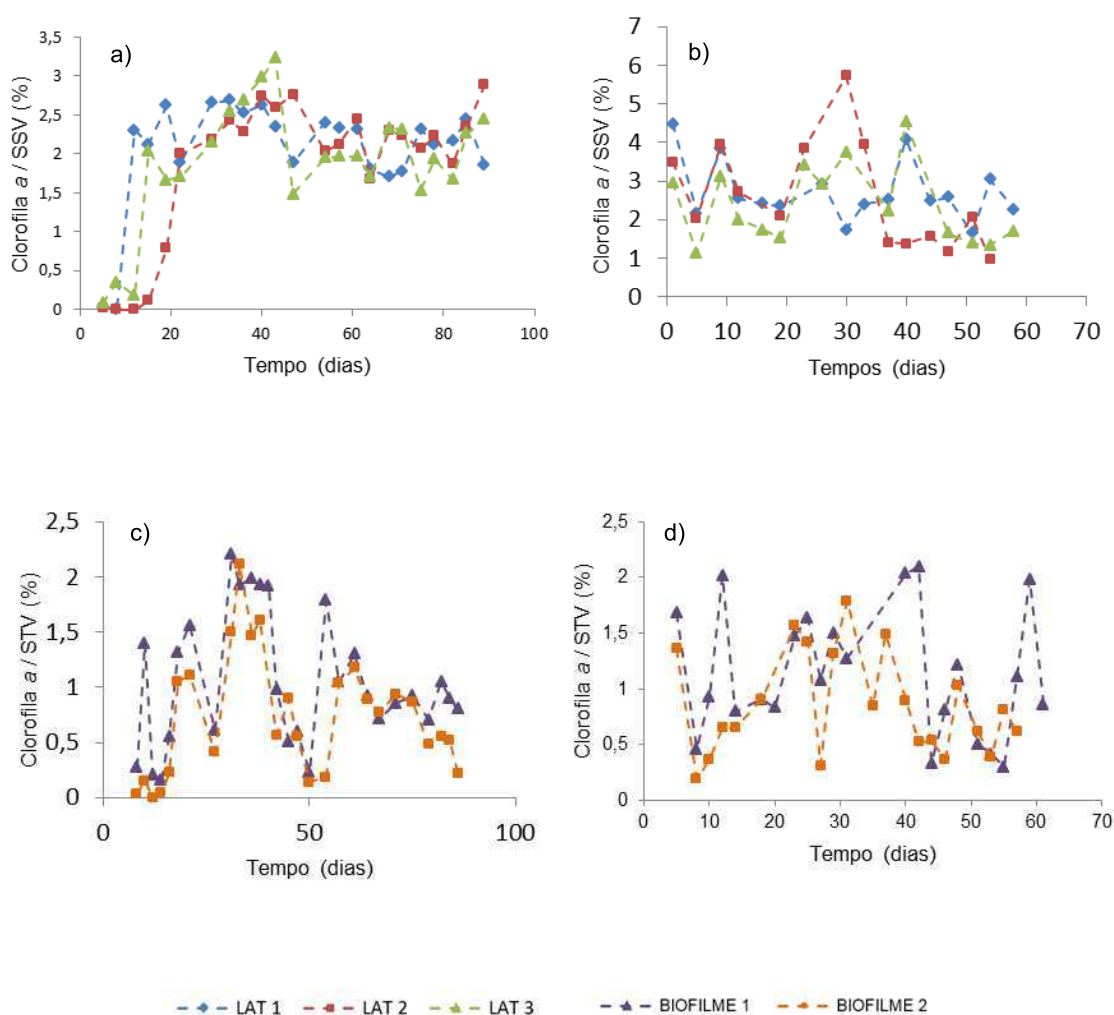


Figura 7.3 – Relações (%) entre clorofila *a* e SSV nos cultivos das LATs durante os períodos I (a) e II (b), e entre clorofila *a* e STV nos biofilmes durante os períodos I (c) e II (d).

Diante desses resultados, pode-se inferir que, dentre os três sistemas, o sistema híbrido 2 foi o que apresentou a menor relação clorofila *a* / SSV dos

três sistemas de cultivo. A ausência da suplementação de CO<sub>2</sub> pode ter contribuído para essa limitação de produção de clorofila *a*. O sistema híbrido 1 apresentou as melhores relações Clorofila *a* / SSV. A LAT 3 também apresentou boa relação Clorofila *a* / SSV, porém menor do que a LAT 1.

#### 7.3.4 Caracterização do biofilme e produtividade lipídica

Na Tabela 7.4 estão apresentadas as principais características dos biofilmes: teor de umidade, concentração da biomassa, conteúdo lipídico e produtividade lipídica.

Tabela 7.4 - Caracterização dos biofilmes (média e desvio padrão).

	Período I		Período II	
	Biofilme 1	Biofilme 2	Biofilme 1	Biofilme 2
Teor de umidade (%)	88,3 (0,8)	91,6 (3,2)	87,0 (0,7)	76,7 (1,5)
Concentração da biomassa (Kg.m <sup>-3</sup> )	120,7 (5,0)	82,4 (4,5)	129,3 (3,9)	181,6 (6,3)
Conteúdo lipídico (%)	2,9 (1,2)	5,6 (3,4)	2,8 (2,1)	2,0 (0,5)
Produtividade lipídica (g.m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	2,6 (0,8)	7,1 (3,9)	3,3 (2,9)	1,9 (2,5)

A concentração da biomassa e o teor de umidade estão relacionados entre si e são importantes para determinar o método de colheita e de separação da biomassa. Observa-se que, para maiores concentrações de biomassa, menores teores de umidade foram observados. Com exceção da concentração da biomassa, no período I, para o biofilme 2, as outras concentrações da biomassa encontradas nesses estudos estão superiores à concentração do biofilme de *Botryococcus braunii*, 96,4 Kg.m<sup>-3</sup>, encontrada por Ozkan et al. (2012).

Os teores de umidade dos biofilmes cultivados nesse estudo, exceto o biofilme 2 no período II, estão acima da faixa de valores de 70 – 80% encontrada por Liu et al. (2013), cultivando um biofilme de microalgas em meio sintético tendo uma placa de vidro revestida por filtro de papel como material aderente.

Os conteúdos lipídicos e as produtividades lipídicas dos dois biofilmes foram baixos, durante os dois períodos. A diversidade de microrganismos que possuem baixo teor de lipídeos faz com que o conteúdo lipídico na biomassa cultivada nas águas residuárias seja menor (SHEN et al., 2014). O biofilme cultivado por Lee et al. (2014), em esgoto doméstico, foi considerado pelos autores como um dos maiores cultivos de biofilme em escala piloto, apresentando elevado conteúdo lipídico, cerca de 21,3%, em relação a literatura.

Ainda são poucos os estudos que cultivam biofilmes em águas residuárias para avaliar o potencial de produtividade lipídica. O cultivo em meio sintético tem sido relatado pela maioria dos autores. Cheng et al. (2013) produziram biofilme de *Botryococcus braunii*, em meio sintético, com produtividades lipídica de 2,34 g.m<sup>-2</sup>.dia<sup>-1</sup>. Liu et al. (2013) cultivando também em meio sintético *Scenedesmus obliquus* e *Botryococcus braunii*, obtiveram 47,9% de conteúdo lipídico. Ambos os autores trabalharam com 10 dias de cultivo. Os demais estudos como de Ozkan et al. (2012), Gross et al. (2013) e Schnurr et al. (2013) cultivaram o biofilme em meios sintéticos e condições ambientais controladas e apresentaram os seguintes resultados, respectivamente, 26,8%, 7,7% e 8-15%. Entretanto, as condições controladas provenientes de alto requerimento tecnológico para cultivo de biomassa em meios sintéticos podem tornar onerosa a produção de biocombustíveis (ASSEMANY et al., 2014).

### 7.3.5 Comunidade fitoplanctônica

A Figura 7.4 apresenta o quantitativo médio de organismos fitoplanctônicos por mL para cada meio de cultivo.

O sistema híbrido 1 apresentou maiores quantidades de organismos fitoplanctônicos, com concentrações de 2x10<sup>7</sup> e 6x10<sup>6</sup> organismos por mL, respectivamente, nos períodos I e II. As menores quantidades foram encontradas na LAT 3, com concentrações médias de 2x10<sup>6</sup> em ambos períodos. O sistema híbrido 2 apresentou concentrações de 6x10<sup>6</sup> e 4x10<sup>6</sup> organismos por mL, nos períodos I e II. Apesar da não suplementação de CO<sub>2</sub> no sistema híbrido 2, as concentrações de organismos por mL foram, aproximadamente, 67 e 50% superiores a LAT 3, respectivamente nos

períodos I e II.

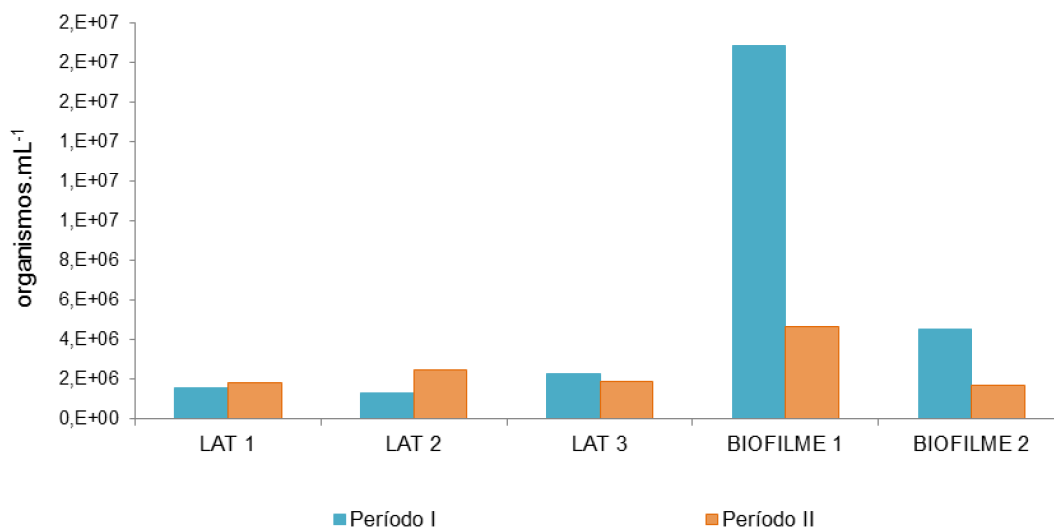


Figura 7.4 – Densidade média de organismos fitoplanctônicos por mL para cada meio de cultivo.

O biovolume total (Figura 7.5) e a abundância relativa das principais espécies fitoplanctônicas (Figura 7.6) estão apresentados a seguir.

O tamanho das algas é variável de uma espécie para outra, dentro de uma mesma espécie e ao longo das fases de crescimento do ciclo de vida. O biovolume algal, ou seja, o tamanho das algas em relação à sua biomassa está relacionado à participação de espécies de dimensões máximas lineares diferentes na estrutura de uma comunidade (BELLINGER e SIGEE, 2010). Um único indivíduo de uma espécie planctônica pode contribuir ao equivalente à diversos indivíduos de outras espécies (FIGUEREDO e GIANI, 2001; FONSECA et al., 2014).

No período I, *Chlorella vulgaris* foi dominante em todos os cultivos: 83, 67 e 96%, respectivamente, nas LATs 1, 2 e 3, e 71 e 62% nos biofilmes 1 e 2, respectivamente. O biovolume nas LATs foi 100% associado a essa microalga. As abundâncias de outras espécies nas LATs foram pequenas em relação à abundância da *Chlorella vulgaris*. *Chlorococcales sp.* e *Eunotia sp.* foram observadas, em menores abundâncias, nas LATs e, em maiores abundâncias, nos biofilmes (Figuras 7.5 a,c).

A cianobactéria *Oscillatoria sp* cresceu somente nos biofilmes. Apesar das menores abundâncias, o tamanho da *Oscillatoria sp.* em relação a

biomassa dos biofilmes foi muito mais representativa do que o tamanho de *Chlorella vulgaris*, que foi mais abundante nos biofilmes. O biovolume de *Eunotia sp.* foi pequeno nos biofilmes, enquanto o biovolume de *Chlorococcales sp.* não foi quantificado.

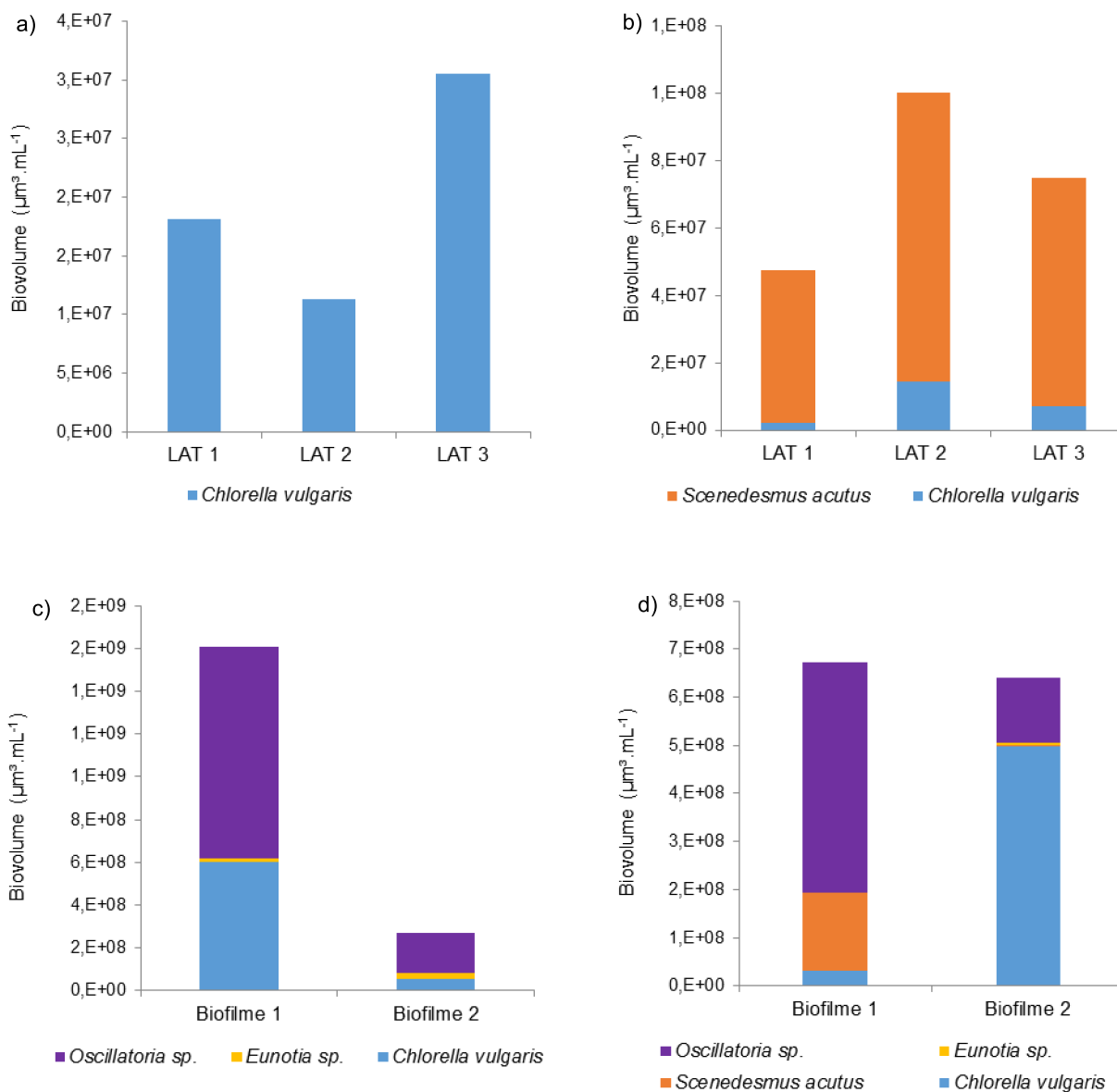


Figura 7.5 – Biovolume total ( $\mu\text{m}^3.\text{mL}^{-1}$ ) das LATs nos períodos I (a) e II (b) e dos biofilmes nos períodos I (c) e II (d).

No período II, a dominância da LAT 1 foi de *Scenedesmus acutus*, com 97% de abundância. Mesmo sendo *Chlorella vulgaris* a mais dominante nas outras LATs, com 96% na LAT 2 e 74% na LAT 3, os biovolumes de *Scenedesmus acutus* foram maiores nas três LATs.

Nos biofilmes 1 e 2 ocorreram maiores predominâncias de *Chlorella*

*vulgaris*, 53 e 87%, respectivamente. A abundância de *Scenedesmus acutus* (45%) também foi alta, no biofilme 1. Nesse período, somente o biofilme 2 apresentou *Eunotia sp.* e, como no período I, a cianobactéria *Oscillatoria sp* cresceu somente nos biofilmes.

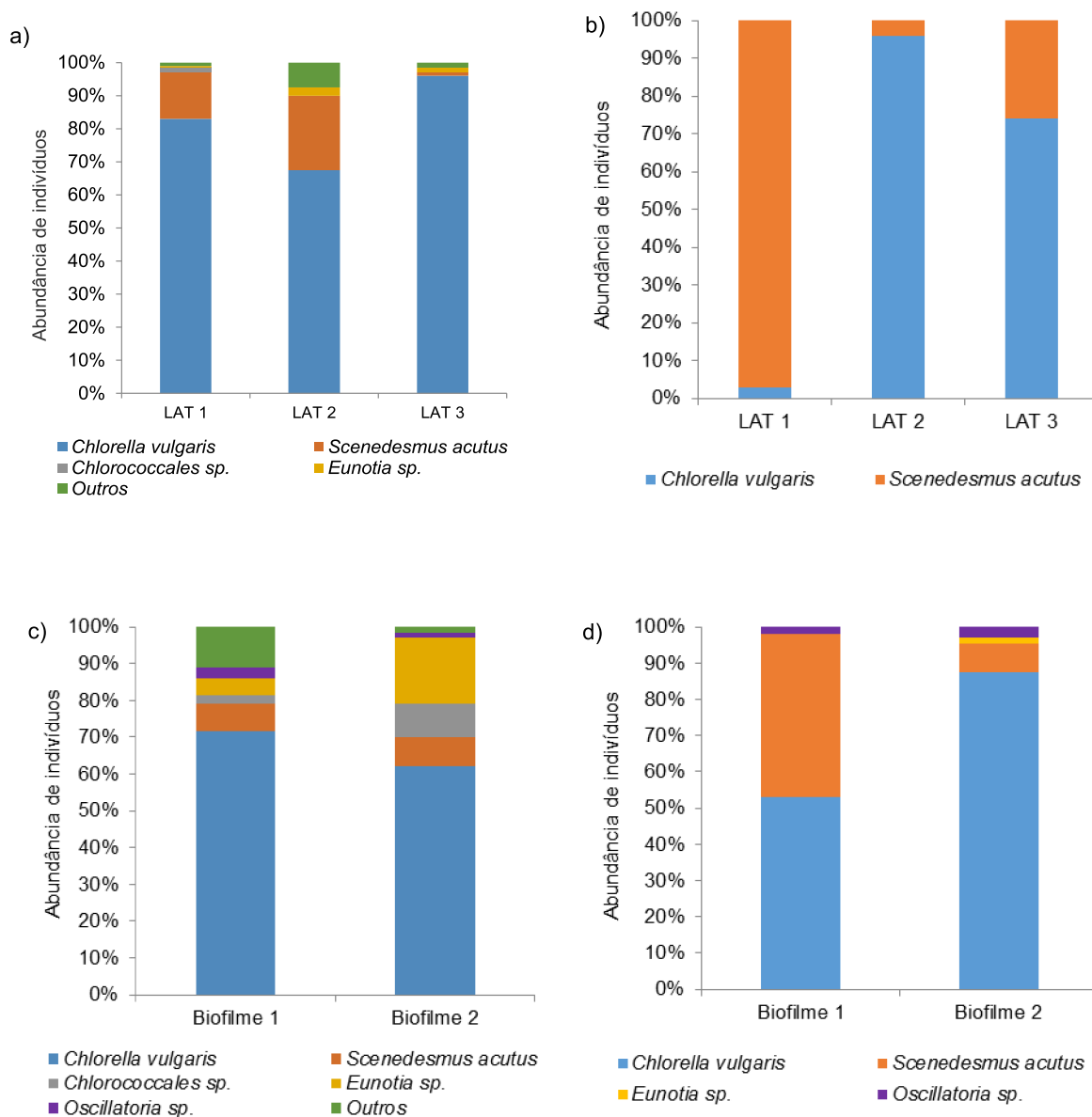


Figura 7.6 – Comunidades fitoplanctônicas nas LATs durante os períodos I (a) e II (b), e nos biofilmes, no período I (c) e no período II (d) (abundância de indivíduos, %).

Novamente, no período II, o biovolume de *Oscillatoria sp* foi maior no biofilme 1 e, no biofilme 2, o biovolume de *Chlorella vulgaris* foi maior. O tamanho da *Eunotia sp.* foi pequeno em relação a biomassa do biofilme.

Bastos et al. (2010) avaliaram lagoas de estabilização, tendo efluente doméstico como meio de cultivo proveniente da mesma estação de tratamento que cedeu o esgoto para esse estudo. Os autores identificaram baixas densidades de *Oscillatoria sp.* durante todo o período de monitoramento (2004 a 2006). Essas cianobactérias foram encontradas aderidas às bordas das lagoas ou flutuando junto a espuma formada na superfície da água.

No presente estudo, *Oscillatoria sp.* se desenvolveu em baixas densidades somente nos biofilmes, nos dois períodos, indicando que essa cianobactéria tem preferência por ambientes estáticos, uma vez que possuem filamentos (AZEREDO, 2012). Os painéis favoreceram o desenvolvimento de diferentes microrganismos fitoplanctônicos daqueles observadas na LAT, apesar da recirculação do seu efluente. Zamalloa et al. (2013) também observaram a presença de *Oscillatoria sp.* na superfície do biofilme tendo águas residuárias como meio de cultivo.

Nos dois períodos, as concentrações de nutrientes advindas do esgoto doméstico se mantiveram próximas, o TDH das LATs foram os mesmos, a vazão de recirculação do efluente da LAT ao painel foi constante. A razão para que a baixa diversidade de espécies no período II está associada às condições ambientais, como aumento da radiação solar e da temperatura, que foram maiores nesse período. Os gases provenientes da combustão adicionados às LATs 1 e 3, durante o período II, não interferiu no crescimento de espécies, uma vez que na LAT 2 também não houve presença de outras espécies.

### 7.3.6 Consumo de CO<sub>2</sub>

Na Tabela 7.5 estão apresentadas as taxas de fixação de CO<sub>2</sub>, as taxas de CO<sub>2</sub> fornecida aos sistemas de cultivo e a eficiência de utilização de CO<sub>2</sub>, para os dois períodos de monitoramento.

A fixação de CO<sub>2</sub> está relacionada à produtividade de clorofila *a*. Como no segundo período de monitoramento, as produtividades de todos os sistemas foram maiores, as taxas de fixação de CO<sub>2</sub> também foram maiores. As taxas de CO<sub>2</sub> fornecidas aos sistemas foram maiores no período I, devido a adição de CO<sub>2</sub> sintético com 99% de pureza, enquanto no período II, houve

adição dos gases provenientes da combustão da gasolina, que contém, aproximadamente, 12% de CO<sub>2</sub> (TASTAN et al., 2013). As taxas de eficiências de consumo de CO<sub>2</sub> foram menores no período I e maiores no período II. Ryu et al. (2009) estudaram o significado da taxa de gás-líquido em fotobiorreatores de coluna de bolhas na eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> e concluíram que o aumento da taxa gás-líquido diminui a eficiência de consumo de CO<sub>2</sub>.

Tabela 7.5 - Taxas de fixação de CO<sub>2</sub> (F<sub>CO2</sub>), taxas de CO<sub>2</sub> fornecido aos sistemas de cultivo (q) e eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> (η), para os dois períodos de monitoramento.

	F <sub>CO2</sub> média (gCO <sub>2</sub> .m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	q (gCO <sub>2</sub> .m <sup>-2</sup> .dia <sup>-1</sup> )	η média (%)
<i>Período I, 1 L.min<sup>-1</sup>, 99% CO<sub>2</sub></i>			
Sistema híbrido 1	0,22	736,91	0,03
Sistema híbrido 2	0,19	-	-
LAT 3	0,23	736,91	0,03
<i>Período II, 3 L.min<sup>-1</sup>, 12% CO<sub>2</sub></i>			
Sistema híbrido 1	0,38	267,97	0,14
Sistema híbrido 2	0,24	-	-
LAT 3	0,46	267,97	0,17

Segundo Ketheesan e Nirmalakhandan (2012), a eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> (η,%) é considerada mais adequada na avaliação da eficácia dos sistemas de transferência de CO<sub>2</sub>, uma vez que relaciona a taxa de fornecimento real de CO<sub>2</sub> e a taxa de fixação de CO<sub>2</sub> por cultura algal.

Como no sistema híbrido 2 não houve suplementação de CO<sub>2</sub>, a sua eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> não foi calculada. Em geral, a eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> média foi baixa para o sistema híbrido 1 e a LAT 3 nos dois períodos de monitoramento desse estudo, e estão inferiores aos resultados encontrados na literatura.

Westerhoff et al. (2010) operaram um reator de placas planas de 10 L, em laboratório, com adição de 5% de CO<sub>2</sub>, em que F<sub>CO2</sub> = 1,54 gCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>, e encontraram taxa de utilização máxima de CO<sub>2</sub> na faixa de 8 a 10%. Os mesmos autores operaram um fotobiorreator tubular helicoidal de 9 L, também em escala laboratorial, com adição de 10 a 12% de CO<sub>2</sub> e F<sub>CO2</sub> = 0,205 gCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>, e encontraram eficiência de utilização de CO<sub>2</sub> máxima

entre 2 a 3%.

Morais e Costa (2007) operaram um reator de coluna de bolhas, usando meio sintético para o cultivo de *Chlorella kessleri*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* e *Spirulina sp.*. Os reatores possuíam volumes de 2 e 4 L, adição de 0,13 e 0,07% de CO<sub>2</sub>, F<sub>CO2</sub> = 0,34 e 0,30 gCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>, e eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> máximo de 5,52 e 5,87%, respectivamente. A faixa de eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> máxima encontrada na literatura é de 23 a 35% (CHIU et al., 2009; LV et al., 2010, KETHEESAN e NIRMALAKHANDAN, 2012).

É relevante destacar que, nos estudos citados, a avaliação da eficiência de consumo de CO<sub>2</sub> ocorreu em ambientes com condições controladas, em escala laboratorial. Nesse estudo, por exemplo, as taxas de assimilação de CO<sub>2</sub> nos biofilmes em contato direto com o ar, bem como as taxas de perdas de CO<sub>2</sub> durante o período noturno, não foram mensuradas.

#### **7.4 Conclusão**

Esse estudo avaliou o desempenho dos sistemas híbridos, tendo o esgoto doméstico previamente tratado como meio de cultivo. Meios de cultivos com suplementação de CO<sub>2</sub> demonstraram ser mais favoráveis para o cultivo de microalgas. O sistema híbrido que não recebeu suplementação de carbono apresentou menores produtividades e consumo de CO<sub>2</sub>, tornando limitada a ampliação da sua escala.

Os resultados de produtividades, remoção de poluentes e consumo de CO<sub>2</sub> da LAT 3 e do sistema híbrido 1 foram próximos. Mas a vantagem do sistema híbrido 1 é a elevada concentração da biomassa em biofilme.

Os futuros trabalhos deverão otimizar os reatores híbridos, considerando outras configurações de reatores de crescimento de biofilme, que pesquisem outros tipos de materiais suporte, vazões de recirculação, inclinações do painel e posicionamentos em relação à LAT.

#### **7.5 Referências**

APHA. Standard Methods for examination of water and wastewater. Washington: American Water Work Association, Water Environmental

Federation. 2012.

ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DIAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; BARRAGAN, J.; PERALES, J. A. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. **Ecological Engineering**, v. 52, p. 143-153, 2013.

ASSEMANY, P. P., CALIJURI, M. L., SANTIAGO, A. F., COUTO, E. A., LEITE, M. O., SIERRA, J. J. B. Effect of solar radiation on the lipid characterization of biomass cultivated in high rate algal ponds using domestic sewage. **Environmental Technology**. In press. 2014.

AZEREDO, V. B. S. Produção de biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) Universidade Federal do Rio de Janeiro. 171p. 2012.

BASTOS, R. K. X.; DORNELAS, F. L.; RIOS, E. N.; RUAS, D. B.; OKANO, W. Y. Dinâmica da qualidade da água e da comunidade planctônica em lagoas de polimento. Estudo de caso no sudeste brasileiro. **Revista AIDIS**, v. 3(1), p. 97 – 107, 2010.

BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. 1<sup>a</sup> ed Cambridge: Cambridge University Press, 1994, 293 p.

BELLINGER, E.G.; SIGEE, D.C. Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. John Wiley & Sons, Chichester. 2010.

BOELEE, N. C.; TEMMINK, H.; JANSSEN, M.; BUISMAN, C. J. N.; WIJFFELS, R. H. Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms. **Water Research**, v. 45, p. 5925 – 5933, 2011.

CHENG, P.; GAO, J. B.; ZHANG, W.; WANG, J.; LIU, T. The growth, lipid and hydrocarbon production of *Botryococcus braunii* with attached cultivation. **Bioresource Technology**, v.138, p. 95–100, 2013.

CHIU, S.Y.; TSAI, M.T.; KAO, C.Y.; ONG, S.C.; LIN, C.S. The air-lift photobioreactors with flow patterning for high density cultures of microalgae and carbon dioxide removal. **Engineering in Life Sciences**, v. 9, p. 254–260, 2009.

CHRISTENSON, L. B.; SIMS, R. C. Rotating Algal Biofilm Reactor and Spool Harvester for Wastewater Treatment with Biofuels By-Products. **Biotechnology and Bioengineering**, 2012.

CRAGGS, R. J.; SUTHERLAND, D.; CAMPBELL, H. Hectare-scale demonstration of high rate algal ponds for enhanced wastewater treatment and biofuel production. **Journal of Applied Phycology**, n. 24, p. 329-337, 2012.

FIGUEREDO, C.C.; GIANI, A. Seasonal variation in the diversity and species richness of phytoplankton in a tropical eutrophic reservoir. **Hydrobiologia**, v.

445, p. 165- 174, 2001.

FONSECA, B. M. et al. Biovolume de cianobactérias e algas de reservatórios tropicais do Brasil com diferentes estados tróficos. **Hoehnea**, v. 41(1), p. 9 – 30, 2014.

GARCÍA, J.; MUJERIEGO, R.; HERNANDEZ-MARINÉ, M. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, n. 12, p. 331-339, 2000.

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., MOLINUEVO-SALCES, B., GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C. Nitrogen transformations under diferente conditions in open ponds by means of microalgae-bacteria consortium treating pig slurry. **Bioresource Technology**, 102, 960-966. 2011.

GROSS, M.; HENRY, W.; MICHAEL, C.; WEN, Z. Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 150, p.195 – 201, 2013.

JOHNSON, M.; WEN, Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 525 – 534, 2010.

KETHEESAN, B.; NIRMALAKHANDAN, N. Feasibility of microalgal cultivation in a pilot-scale airlift-driven raceway reactor. **Bioresource Technology**, 108, p. 196–202, 2012.

KOMÁREK, J.; FOTT, B. Das Phytoplankton des Sübwassers. Systematik und Biologie. 7. Teil, 1. Hälfte. Chlorophyceae (Grünalgen) Ordnung: Chroococcales. 1983. 1041p.

LEE, S. H.; OH, H. M.; JO, B. H.; LEE, S. A.; SHIN, S. Y.; KIM, H. S.; LEE, S. H.; AHN, C. Y. Higher Biomass Productivity of Microalgae in an Attached Growth System, Using Wastewater. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, n. 11, p. 1566 –1573, 2014.

LIU, T. Z.; WANG, J.; HU, Q.; CHENG, P.; JI, B.; LIU, L.; CHEN, Y.; ZHANG, W.; CHEN, W.; CHEN, L.; GAO, L.; JI, C.; WANG, H. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 216 – 222, 2013.

LV, J.M.; CHENG, L.H.; XU, X.H.; ZHANG, L.; CHEN, H.L.. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6797 – 6804, 2010.

MARKER, A.F.H.; NUSCH, H.; RAI, H.; RIEMANN, B. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusion and recommendations. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 14, p. 91-106, 1980.

MORAIS, M.G.D.; COSTA, J.A.V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina sp.* cultivated in flasks and

vertical tubular photobioreactors. **Biotechnology Letters**. v. 29, p. 1349–1352, 2007

NASCIMENTO, J. R. S.; MELO, D. M.; SOUZA, C. D. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios em lagoas de alta taxa de produção de algas. In: XX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 2013, Bento Gonçalves. **Água – desenvolvimento econômico e socioambiental**, ABRH – Associação Brasileira de Recursos Hídricos, 8 p.

NEDERLANDSE NORM (NEN). NEN 6520. Norma holandesa sobre determinação de clorofila a pelo método do etanol, 1981.

NUSH, E. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Arch. Hydrobiolol**, v. 14, p. 14-36, 1980.

OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 542 - 548, 2012.

PARRA, O. A., GONZALEZ, M.; DILLAROSSA, V.; RIVERA, P. & ORELLANA, M. Manual taxonomico del fitoplâncton de águas continentales. V – Chlorophyceae Parte I Volvocales, Tetrasporales, Chlorococcales y Ulothricales. Universidad de Concepcion. 1982.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 61, p. 633 – 639, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. **Water Science and Technology**, v. 63, n.8, p. 1758 - 1764, 2011.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v.102, p. 35 - 42, 2011.

POSADAS, E.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; SOLTAU, A.; DOMÍNGUEZ, A.; MUÑOZ, R. Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal–bacterial biofilm bioreactors. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 50 – 58, 2013.

PUTT, R.; SINGH, M.; CHINNASAMY, S.; DAS, K. C. An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO<sub>2</sub> mass transfer. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3240 – 3245, 2011.

ROCHA, E. O.; CALIJURI, M. L.; SANTIAGO, A. F.; ASSIS, L. C.; ALVES, L. G. S. The contribution of conservation practices in reducing runoff, soil loss, and transport of nutrients at the watershed level. **Water Resource Management**, 26, p. 3831 – 3852, 2012.

RYU, H.J.; OH, K.K.; KIM, Y.S. Optimization of the influential factors for the improvement of CO<sub>2</sub> utilization efficiency and CO<sub>2</sub> mass transfer rate. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 15, p. 471 – 475, 2009.

SANTIAGO, A. F. Avaliação do desempenho de lagoas de alta taxa no tratamento de esgoto pré-desinfectado submetidas a diferentes níveis de radiação solar. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) Universidade Federal de Viçosa. 158p. 2013.

SANTIAGO, A. F., CALIJURI, M. L., ASSEMAN, P. P., CALIJURI, M. C., REIS, A. J. D. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent, **Environmental Technology**, v. 4, p. 1877 – 1885, 2013.

SARTORY, D.P.; GROBBELAAR, J.U. Extraction of chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. **Hydrobiologia**, v. 114 (3), p. 177-187, 1984.

SHEN, Y.; ZHANG, H.; XU, X.; LIN, X. Biofilm formation and lipid accumulation of attached culture of *Botryococcus braunii*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 2014.

SCHNURR, P. J.; ESPIE, G. S.; ALLEN, D. G. Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 337 – 344, 2013.

SCHWARZBOLD, A.; BURLIGA, A. L.; TORGAN, L. C. **Ecologia do Perífiton**. São Carlos: RiMa Editora, 2013, 413 p.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: an experimental study. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, p. 417 – 423, 2007.

SHI, J.; PODOLA, B.; MELKONIAN, M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 260 – 266, 2014.

SUTHERLAND, D. L., TURNBULL, M. H., CRAGGS, R. J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Research**, 53, 271-281. 2014.

TASTAN, B. E.; DUYGU, E.; ILBAS, M.; DÖNMEZ, G. Utilization of LPG and gasoline engine exhaust emissions by microalgae. **Journal of Hazardous Materials**, v. 246-247, p. 173-180, 2013.

UTHERMÖL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton - methodic mitt. **Int. Ver. Limnol**, v.9, p.1-38, 1958.

VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural water. **Marine Chemistry**, v.10, p.109-122, 1981.

VALDÉS, F.J.; HERNÁNDEZ, M.R.; CATALÁ, L.; MARCILLA, A. Estimation of CO<sub>2</sub> stripping/CO<sub>2</sub> microalgae consumption ratios in a bubble column photobioreactor using the analysis of the pH profiles. Application to

*Nannochloropsis oculata* microalgae culture. **Bioresource Technology**, 119, p. 1–6, 2012.

VELOSO, V.; REIS, A.; GOUVEIA, L.; FERNANDES, H.L.; EMPIS J.A.; NOVAIS, J.M. Lipid Production by *Phaeodactylum tricornutum*. **Bioresource Technology**, v. 38(2-3), p.115-9, 1991.

VICENTE, M. J. G. Captura de CO<sub>2</sub> mediante algas unicelulares. Trabajo fin de carrera, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica De Madrid, Madrid, 2010.

WALKLEY, A.; BLACK, I. A. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, v. 37, p. 29 – 37, 1934.

WESTERHOFF, P.; HU, Q.; SOTO, M.E.; VERMASS, W. Growth parameters of microalgae tolerant to high levels of carbon dioxide in batch and continuous flow photobioreactors. **Environmental Technology**, v. 31, p. 523–532, 2010.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analysis**. 2<sup>a</sup> ed. New York: Springer-Verlag. 1991. 391p.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analysis**. 3<sup>a</sup> ed. New York: Springer-Verlag. 2000. 429p.

ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource nutrient immobilization in Technology**, v. 130, p.152-160, 2013.

## 8. CONCLUSÃO GERAL

A tecnologia simplificada das lagoas de alta taxa (LATs) integrada aos reatores de crescimento de biofilme demonstrou potencial para o cultivo de biomassa e tratamento do esgoto doméstico. Quando comparado a LAT convencional com adição de CO<sub>2</sub>, o sistema híbrido com suplementação de CO<sub>2</sub> apresentou resultados de produtividades e fixação de CO<sub>2</sub> próximos. Entretanto, as vantagens associadas à presença do biofilme influenciou positivamente no desenvolvimento do sistema, como: maior concentração da biomassa, que se desenvolveu de forma aderida e com menores teores de umidade. Além disso, a colheita do biofilme foi realizada por raspagem, de forma fácil, simples e econômica, já que o reator se constituiu em uma unidade de separação física da biomassa-efluente.

Os meios de cultivos com suplementação de carbono demonstraram ser mais favoráveis para o desenvolvimento algal. O sistema híbrido que não recebeu suplementação de carbono apresentou menores produtividades e consumo de CO<sub>2</sub>.

A baixa produtividade lipídica está associada ao baixo conteúdo lipídico dos microrganismos dos biofilmes. O esgoto doméstico contém outros tipos de biomassa, além da algal, que apresentam baixo teor de lipídeos, fazendo com que o conteúdo lipídico total da biomassa seja reduzido.

As condições ambientais influenciaram nas espécies fitoplanctônicas dos meios de cultivo. Em geral, as espécies *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus acutus* foram dominantes em todos os sistemas de cultivos. O ambiente do biofilme permitiu o desenvolvimento de diferentes microrganismos fitoplanctônicos em relação à LAT, como a cianobactéria filamentosa *Oscillatoria sp.*

## 9. SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Os resultados preliminares da pesquisa evidenciaram a eficiência do sistema híbrido na produtividade e na colheita da biomassa durante o tratamento do esgoto doméstico. Entretanto, uma das maiores limitações do desempenho do cultivo do biofilme foi a rápida degradação do material suporte utilizado (entretela tecido), que não permitiu o crescimento da biomassa por muitos dias e impediu a observação do ciclo completo de crescimento algal e remoção de poluentes. Os futuros trabalhos deverão considerar outros tipos de material suporte, que sejam mais resistentes e que permitam a aderência das microalgas de forma eficaz, visando o aproveitamento da biomassa em maior escala.

O desprendimento do biofilme, após muitos dias de cultivo, foi outro fator limitante que pode estar associado às tensões de cisalhamento do efluente ao percorrer a área superficial do painel. A vazão de recirculação do efluente, bem como as inclinações dos painéis e variações dos reatores, devem ser estudadas para otimizar a taxa de aplicação do efluente ao painel.

A determinação da comunidade bacteriana e de exopolímeros (EPS) são importantes para o estudo de biofilmes. Pesquisas futuras devem considerar essas análises.

As emissões provenientes da combustão da gasolina, a princípio, não impediram o desenvolvimento algal. Entretanto, a caracterização dos gases e o estudo das interações da aplicação desses gases no meio de cultivo são necessários para garantir melhor produção de biomassa algal.

Devido ao caráter inovador dos reatores híbridos, um balanço dos dados de eficiência energética, viabilidade econômica e vantagens ambientais se faz necessário para avaliar todo o processo e detectar pontos favoráveis e desfavoráveis, além dos impactos causados. A análise de ciclo de vida (ACV) permite realizar esse balanço, considerando o mapeamento total de todo o processo, com controle e registro de entrada e saída de cada insumo, produto e perdas na unidade produtiva.

## 10. REFERÊNCIAS GERAIS

ARBIB, Z.; RUIZ, J.; ÁLVAREZ-DÍAZ, P.; GARRIDO-PÉREZ, C.; PERALES, J. A. Capability of different microalgae species for phytoremediation processes: Wastewater tertiary treatment, CO<sub>2</sub> bio-fixation and low cost biofuels production. **Water Research**, v. 49, p. 465 - 474, 2014.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557–577, 2010.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 294– 306, 2007.

GROSS, M.; HENRY, W.; MICHAEL, C.; WEN, Z. Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest. **Bioresource Technology**, v. 150, p.195 – 201, 2013.

JOHNSON, M.; WEN, Z. Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 525 – 534, 2010.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Microalgae biofuels: a critical review of issues, problems and the way forward. **Biotechnology Advances**, v. 30, p. 673–690, 2012.

LI, Y.; HORSMAN, M.; WU, N.; LAN, C.Q.; DUBOIS-CALERO, N. Biofuels from microalgae. **Biotechnology Progress**, v. 24, p. 815 – 820, 2008.

LIU, T. Z.; WANG, J.; HU, Q.; CHENG, P.; JI, B.; LIU, L.; CHEN, Y.; ZHANG, W.; CHEN, W.; CHEN, L.; GAO, L.; JI, C.; WANG, H. Attached cultivation technology of microalgae for efficient biomass feedstock production. **Bioresource Technology**, v. 127, p. 216 – 222, 2013.

MOLINA GRIMA, E.; BELARBI, E.H.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F.G.; ROBLES MEDINA, A.; CHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, p. 491–515, 2003.

OZKAN, A.; KINNEY, K.; KATZ, L.; BERBEROGLU, H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 542 - 548, 2012.

SCHNURR, P. J.; ESPIE, G. S.; ALLEN, D. G. Algae biofilm growth and the potential to stimulate lipid accumulation through nutrient starvation. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 337 – 344, 2013.

ZAMALLOA, C.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Decentralized two-stage sewage treatment by chemical-biological flocculation combined with microalgae biofilm for a roof installed parallel plate reactor. **Bioresource**

**nutrient immobilization in Technology**, v. 130, p.152-160, 2013.