

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DÉBORA ANDREATTA DA SILVA

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ESGOTO
SANITÁRIO BODIGERIDO VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

CURITIBA

2014

DÉBORA ANDREATTA DA SILVA

**PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ESGOTO
SANITÁRIO BIODIGERIDO VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. André Bellin Mariano
Co-orientadora: Prof. Dr. Maria Luiza F. Rodrigues

CURITIBA

2014

S586p

Silva, Débora Andreatta da

Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biodiesel / Débora Andreatta da Silva. – Curitiba, 2014.

105f. : il. color. ; 30 cm.

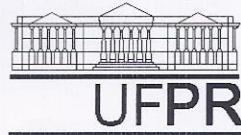
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2014.

Orientador: André Bellin Mariano -- Co-orientadora: Maria Luiza F. Rodrigues.

Bibliografia: p. 91-99.

1. Esgotos - Tratamentos. 2. Microalga. 3. Biodiesel I. Universidade Federal do Paraná. II. Mariano, André Bellin. III. Rodrigues, Maria Luiza F.. IV. Título.

CDD: 662.88



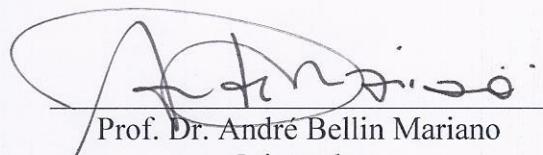
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais- PIPE
Setor de Tecnologia

RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

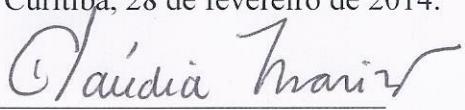
Aos vinte e oito dias do mês de fevereiro de 2014, no Auditório do CEHPAR - no Centro Politécnico - UFPR, foi instalada pela Prof.^a Dr.^a Ana Sofia Clímaco Monteiro de Oliveira, coordenadora do PIPE – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, a Banca Examinadora para a ducentésima sexagésima sexta defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais. Estiveram presentes no ato, além do coordenador do Curso de Pós-Graduação, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo a determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais, foi constituída pelos professores doutores: Prof. Dr. André Bellin Mariano (UFPR), Claudia E. Bruno Marino (UFPR), Cassia Maria Lie Ugaya (UTFPR). Às 13:30 horas, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata **DÉBORA ANDREATTA DA SILVA** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada **“PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ESGOTO SANITÁRIO BIODIGERIDO VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL”**. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de argüição pelos membros participantes. Tendo em vista a

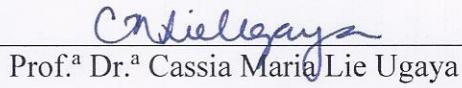
dissertação e a argüição, a banca decidiu pela

Aprovação do candidato, (de acordo com a determinação dos artigos 68 e 69 da resolução 65/09 de 09.11.2009).

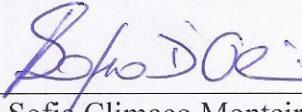


Prof. Dr. André Bellin Mariano
Orientador

Curitiba, 28 de fevereiro de 2014.

Prof.^a Dr.^a Claudia E. Bruno Marino
Examinador



Prof.^a Dr.^a Cassia Maria Lie Ugaya
Examinador



Prof.^a Dr.^a Ana Sofia Clímaco Monteiro d'Oliveira
Coordenadora do PIPE

*À minha família, em especial
aos meus pais.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me guiar, me abençoar e me fortalecer sempre. E a Maria, mãe que passa na frente e guia seus filhos. Obrigado mãe por nunca me desamparar.

Aos meus pais, minha mamãe Adel do Rocio Andreatta e meu papai Edson Newton Moura da Silva. Por terem dedicado sua vida à minha criação e formação profissional. Agradeço pelo amor incondicional, por terem me apoiado sempre nos momentos difíceis e nunca permitirem que eu desista ou me abata diante das dificuldades.

Ao meu namorado, Marcel Cherubim Junior, e melhor amigo por todo carinho, amor, compreensão. Obrigado por me incentivar e me apoiar sempre.

Agradeço à minha grande amiga e companheira Juliana Túlio pelos anos de amizade e por sempre compartilhar comigo experiências de vida e científicas.

Aos meus orientadores André Bellin Mariano e Maria Luiza Fernandes Rodrigues por contribuírem para a minha formação acadêmica desde a graduação.

Aos meus demais professores que entre graduação e mestrado ajudaram a construir e desenvolver em mim o espírito de pesquisadora. Graças a essas pessoas que desenvolvi paixão pela pesquisa.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho, em especial aos meus colegas de trabalho Bruno Miyawaki, Diego de Oliveira Corrêa e Beatriz Santos.

Ao NPDEAS e ao Prof. José Viriato Coelho Vargas pela disponibilização de toda a estrutura necessária para o desenvolvimento desse estudo.

À Professora Nivea da Silva Matuda e aos alunos Bruno Henrique Correa da Silva e Daniel Basso Ribas do Laboratório de Estatística Aplicada (LEA – UFPR) pelo apoio nas análises estatísticas utilizadas neste trabalho.

À UFPR e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais pela oportunidade de mestrado

À Nilko e a PSA Pegeout pela parceira e financiamento de projetos de pesquisa.

A CAPES e ao CNPq pelo financiamento de bolsas e pesquisa.

Muito obrigado!

*“A mente que se abre a uma nova
ideia jamais voltará ao seu
tamanho original”*

Albert Einstein

RESUMO

As microalgas apresentam potencial como agente biorremediador de efluentes e com a possibilidade de geração de energia pelo aproveitamento de sua biomassa e óleo. O custo de produção das microalgas está principalmente relacionado ao meio de cultivo e aproveitamento da biomassa. Desta forma, o objetivo desse estudo foi utilizar esgoto sanitário como meio de cultivo para a produção de biomassa de microalga visando o tratamento desse efluente. O esgoto possui alto teor de material orgânico e é rico em compostos como o nitrogênio e o fósforo que são essências para o cultivo de microalgas. Os experimentos foram realizados em escala laboratorial (reator Erlenmeyer de 2 L) e em reatores *airlifts* (12 L) em diferentes etapas. Primeiramente foi realizado o cultivo em escala laboratorial para estabelecer a melhor diluição de esgoto em água. Nessa etapa foram testadas as concentrações de 10%, 15% e 25%. A diluição de 25% obteve a mesma produtividade do controle com uma densidade celular ao final do cultivo de $1573 \pm 12 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ e biomassa seca de $0,463 \pm 0,02$ g.L⁻¹, em comparação ao controle, $1480 \pm 160 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ e $0,410 \pm 0,04$ g.L⁻¹. A partir desse resultado, foi realizado o aumento de escala (reator *airlift*) e também a extração da diluição, testando então 25%, 35% e 45% de esgoto sanitário. Nesse segundo experimento, a concentração de 35% obteve o melhor resultado com $3061 \pm 668 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ e $0,864 \pm 0,04$ g.L⁻¹ de biomassa seca, enquanto o controle teve concentração final de $2737 \pm 205 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ e $0,717 \pm 0,12$ g.L⁻¹. A capacidade de biorremediação foi determinada após a remoção das microalgas por flocação. Com esgoto sanitário na concentração de 35%, após 18 dias de cultivo ocorreu diminuição de 52% na Demanda Bioquímica de Oxigênio; 36% na Demanda Química de Oxigênio e 76% de nitrogênio amoniacal em relação à concentração no início do experimento. Esses resultados demonstram que o esgoto sanitário pode ser utilizado como meio alternativo para o crescimento de microalgas, e que essas ao crescerem promovem o tratamento do efluente.

Palavras-chave: esgoto sanitário, microalga, biorremediação, biodiesel, fotobiorreator.

ABSTRACT

Microalgae have potential as biorremediador agent and the possibility of power generation by making good use of its biomass and oil. The cost of production of microalgae is mainly related to the culture medium and utilization of biomass. Thus, the aim of this study was to use wastewater as a culture medium for biomass production and the wastewater treatment. The wastewater is high in organic matter and compounds such as nitrogen and phosphorous. These compounds are essential for the cultivation of microalgae. The experiments were performed on a laboratory scale (2 L erlenmeyer reactor) and airlifts reactors (12 L) at different stages. First cultivation was carried in laboratory scale to establish the best dilution. At this stage were tested at concentrations of 10%, 15% and 25%. The dilution of 25% achieved the same productivity to control with a cell density at the end of cultivation $1573 \pm 12 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ and dry biomass of $0.463 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$, compared to the control, $1480 \pm 160 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ and $0.410 \pm 0.04 \text{ g.L}^{-1}$. From this result, we performed the scaling (airlift reactor) and also the extrapolation of dilution, then testing 25%, 35% and 45% of wastewater. In this second experiment, concentration of 35% achieved the best result with $3061 \pm 668 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ and $0.864 \pm 0.04 \text{ g.L}^{-1}$ dry biomass, while the control had a final concentration of $2737 \pm 205 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ and $0.717 \pm 0.12 \text{ g.L}^{-1}$. The bioremediation capacity was determined after the removal of microalgae by flocculation. With wastewater concentration of 35%, after 18 days of cultivation was 52% decrease in the Biochemical Oxygen Demand; 36% chemical oxygen demand and 76% of ammonia nitrogen concentration in relation to the beginning of the experiment. These results demonstrate that the wastewater can be used as an alternative medium for the growth of algae and the growth promote the treatment of effluent.

Key-words: wastewater, microalgae, bioremediation, biodiesel, photobiorreactor.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – CONSUMO MUNDIAL DE COMBUSTÍVEIS ATÉ 2030	22
FIGURA 02 – ESQUEMA METABOLISMOS MICROALGAS.....	28
FIGURA 03 – SISTEMAS ABERTOS.....	30
FIGURA 04 – SISTEMAS FECHADOS	31
FIGURA 05 – FLUOXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO NPDEAS	32
FIGURA 06 – FOTOBIORRETORES COMPATOS NO NPDEAS	33
FIGURA 07 – REATORES AIRLIFTS	34
FIGURA 08 – NÚMERO DE PESSOAS (MILHÕES) SEM ACESSO À REDE COLETORA DE ESGOTO – 2008	40
FIGURA 09 – METAS E ESTRATÉGIAS DEFINIDAS PARA ALCANÇA-LAS..	46
FIGURA 10 – FLUXOGRAMA COLETA E BIODIGESTÃO DO ESGOTO SANITÁRIO DA UFPR E DO NPDEAS.....	47
FIGURA 11 – BIODIGESTOR DE FLUXO ASCENDENTE DO NPDEAS	48
FIGURA 12 – BOMBONA PARA ARMAZENAMENTO DE ESGOTO	48
FIGURA 13 – DISPOSIÇÃO DOS FRASCOS PARA O EXPERIMENTO EM ESCALA LABORATORIAL.....	49

FIGURA 14 – CULTIVOS EM REATORES TIPO AIRLIFT.....	50
FIGURA 15 – MICROALGA DO GENÊRO <i>Scenedesmus</i>	51
FIGURA 16 – CÂMARA DE NEUBAUER UTILIZADA PARA CONTAGEM CELULAR.....	52
FIGURA 17 – APARATO PARA FILTRAÇÃO	53
FIGURA 18 – SEDIMENTAÇÃO E FILTRAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL. (A) BIOMASSA SEDIMENTADA E SOBRENADANTE; (B) BIOMASSA ÚMIDA EM PROCESSO DE FILTRAÇÃO	55
FIGURA 19 – ASPECTO BIOMASSA RECUPERADA. (A) BIOMASSA ÚMIDA; (B) BIOMASSA SECA; (C) BIOMASSA SECA E MACERADA .	56
FIGURA 20 – DENSIDADE CELULAR DOS TRATAMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL COMPARADOS COM O CONTROLE.....	62
FIGURA 21 – BIOMASSA SECA DOS TRATAMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL COMPARADOS COM O CONTROLE.....	63
FIGURA 22 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CONTROLE (CHU) EM ESCALA LABORATORIAL.....	66
FIGURA 23 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CULTIVO COM 10% DE ESGOTO EM ESCALA LABORATORIAL.....	66

FIGURA 24 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CULTIVO COM 15% DE ESGOTO EM ESCALA LABORATORIAL	67
FIGURA 25 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL CRESCIMENTO CELULAR EM ESCALA LABORATORIAL	68
FIGURA 26 – AJUSTE LOGÍSTICO DE REGRESSÃO LINEAR PARA VARIÁVEL BIOMASSA EM ESCALA LABORATORIAL	69
FIGURA 27 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL BIOMASSA EM ESCALA LABORATORIAL	70
FIGURA 28 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS EM ESCALA LABORATORIAL.....	71
FIGURA 29 – NÚMERO DE CÉLULAS DOS TRATAMENTOS EM REATORES <i>AIRLIFT</i> COMPARADOS COM O CONTROLE (CHU).....	73
FIGURA 30 – ANÁLISE DE BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS COM ESGOTO EM REATORES <i>AIRLIFT</i> COMPARADOS COM O CONTROLE (CHU)	74
FIGURA 31 – DOSAGEM DE LIPÍDEOS TOTAIS NOS CULTIVOS COM ESGOTO E NO CONTROLE (CHU) EM REATORES <i>AIRLIFT</i>	75
FIGURA 32 – CURVA TÍPICA DE CRESCIMENTO CELULAR. (1) FASE LAG, (2) FASE DE CRESCIMENTO EXPONENCIAL, (3) FASE DE CRESCIMENTO LINEAR, (4) FASE ESTACIONÁRIA, (5) FASE DE DECLÍNIO	76

FIGURA 33 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO EXPLICANDO COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL NÚMERO DE CÉLULAS EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	78
FIGURA 34 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL NÚMERO DE CÉLULAS EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	79
FIGURA 35 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO EXPLICANDO COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA SECA EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	80
FIGURA 36 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL BIOMASSA EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	81
FIGURA 37 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS EM REATOR AIRLIFT PARA DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO.	83
FIGURA 38 – ANALISES DE BIOMASS SECA E NÚMERO DE CÉLULAS NA REPETIÇÃO DO CULTIVO COM 35% DE ESGOTO EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	84

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – DIFERENTES FONTES DE ÓLEO PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	25
TABELA 02 – PRODUTIVIDADE EM BIODIESEL DE MATÉRIAS-PRIMAS TRADICIONAIS EM COMPARAÇÃO AO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DAS MICROALGAS	26
TABELA 03 – TEOR DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES ESPECIES CULTIVADAS FOTOTROFICAMENTE APENAS COM AR ATMOSFÉRICO.....	29
TABELA 04 – COMPARATIVO SISTEMAS ABERTOS E FECHADOS	31
TABELA 05 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DO NPDEAS	35
TABELA 06 – VOLUME TOTAL DE ESGOTO TRATADO POR DIA (m ³)	42
TABELA 07 – REDUÇÃO DE PARAMÊTROS EM CULTIVO COM ÁGUA RESÍDUAL MUNICIPAL.....	43
TABELA 08 – MODELOS AJUSTADOS PARA OS DADOS EM ESCALA LABORATORIAL.....	59
TABELA 09 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO 3.....	65
TABELA 10 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO LINEAR EXPLICANDO O COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA EM ESCALA LABORATORIAL	68

TABELA 11 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR EXPLICANDO O COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL NÚMERO DE CÉLULAS EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	78
TABELA 12 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR EXPLICANDO O COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA SECA EM REATOR <i>AIRLIFT</i>	80
TABELA 13 – COMPARAÇÃO MULTIPLA (PÓS KRUSKAL-WALLIS)	81
TABELA 14 – TEORES DE DIVESOS PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS NO ESGOTO SANITÁRIO	85
TABELA 15 – TEORES DE DIVESOS PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS NO ESGOTO SANITÁRIO ANTES E DEPOIS DO CULTIVO COM MICROALGA	86
TABELA 16 – RESUMO LEVANTAMENTO DE DADOS DE CULTIVOS EM ESCALA LABORATORIAL E <i>AIRLIFT</i>	88

LISTA DE SIGLAS

ABNT	– Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACV	– Análise de Ciclo de Vida
CEPPA	– Centro de Pesquisas e Processamentos de Alimentos
CNI	– Confederação Nacional da Indústria
CONAMA	– Conselho Nacional do Meio Ambiente
IBGE	– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	– Instituto Nacional de Metereologia
NPDEAS	– Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Energia Autossustentável
LEA	– Laboratório de Estatística Aplicada
UFPR	– Universidade Federal do Paraná

LISTA DE ABREVIATURAS

BBM	– Bold Basal Medium
BHT	– Butilhidroxitolueno
cél	– células
cm	– centímetros
DBO	– Demanda Bioquímica de Oxigênio
DHA	– Docosaaenoico
DQO	– Demanda Química de Oxigênio
EPA	– Eicosapentaenoico
FBR	– Fotobiorreator
ha	– hectare
kHz	– kilohertz
L	– litro
m ²	– metros quadrados
m ³	– metros cúbicos
Mb/d	– milhões de barris por dia
mg	– miligramas
min.	– minuto
mL	– mililitro
mmol	– milimol
nm	– nanômetros
NOx	– óxidos de nitrogênio
°C	– graus célsius
pH	– potencial hidrogenionico
PVC	– Policloreto de vinila
rpm	– rotações por minuto
TRH	– tempo de retenção hidráulica
W	– Watt

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
2.1 COMBUSTÍVEIS DE FONTES FÓSSEIS	22
2.2 BIOCOMBUSTÍVEIS	23
2.2.1 Biodiesel.....	24
2.3 MICROALGAS	27
2.3.1 Formas de Cultivos	29
2.3.2 Cultivo de microalgas no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS).....	32
2.3.3 Condições de cultivo	38
2.4 ESGOTO SANITÁRIO.....	39
3 DESAFIOS	44
4 OBJETIVOS.....	45
4.1 OBJETIVO GERAL	45
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
5 MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.1 COLETA E MANUTENÇÃO DO ESGOTO SANITÁRIO BIODIGERIDO....	47
5.2 MEIO DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE CULTIVO	49
5.3 SELEÇÃO DA MICROALGA	51
5.4 ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO AO LONGO DO CULTIVO... ..	52
5.4.1 Contagem Celular	52
5.4.2 Biomassa seca	53
5.4.3 Determinação de pH	54
5.5 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA E DOSAGEM DE LIPÍDEOS TOTAIS	55
5.6 ANÁLISE DE BIOMERREDIAÇÃO DO ESGOTO	57
5.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS	58
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
6.1 DETERMINAÇÃO DA MELHOR DILUIÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO	61
6.1.1 Tratamento estatístico dos dados obtidos em escala laboratorial	64
6.1.2 Escolha da concentração para aumento de escala	70

6.2 CULTIVOS EM REATORES <i>AIRLIFT</i> COM AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO	72
6.2.1 Tratamento estatístico dos dados obtidos em escala não-laboratorial (reatores <i>airlift</i>)	77
6.2.2 Determinação da melhor concentração de esgoto sanitário para o cultivo de microalgas.....	82
6.3 CULTIVO EM REATOR <i>AIRLIFT</i> DA MELHOR CONDIÇÃO OBTIDA EM ESCALA NÃO-LABORATORIAL.....	83
6.3.1 Remoção de nutrientes do esgoto sanitário pelo crescimento da microalga em reatores <i>airlift</i>	84
7 TRABALHOS FUTUROS.....	89
8 CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS.....	91
ANEXOS	100

1 INTRODUÇÃO

Com o alto custo do petróleo os biocombustíveis tornam-se mais atraentes. Além disso, nos últimos anos, cresce a discussão acerca dos impactos ambientais de qualquer ordem. A preocupação com as emissões gasosas, principalmente em grandes centros urbanos, é crescente. Isso acontece tendo em vista não somente os impactos ambientais, mas principalmente o impacto dessas emissões sobre a saúde e qualidade de vida da população.

Por isso, busca-se substituir esse combustível por biocombustíveis mais baratos, mais eficientes ou menos poluentes. Diferentes biocombustíveis podem ser produzidos a partir de várias fontes de biomassa, como por exemplo, bioetanol, biodiesel, biogás e bio-hidrogênio. Como fonte de biomassa pode-se utilizar soja, milho, algodão, cana, assim como resíduos de diferentes processos, como bagaço da cana, palha, poda urbana e madeira.

Para a produção de biocombustíveis, geralmente utiliza-se biomassa proveniente de culturas comestíveis (primeira geração). Essa prática também pode ser questionável, uma vez que a destinação dessa biomassa para a obtenção de combustível pode encarecer o preço do alimento devido sua menor disponibilidade no mercado. Além disso, esse tipo de cultura necessita de terras agricultáveis, áreas extensas e grandes volumes de água.

Ao se utilizar biomassa de microalgas para a produção de biocombustíveis, os problemas relacionados à área necessária pra cultivo que as biomassas de primeira geração possuem, não existem. O cultivo de microalgas dispensa terras agricultáveis e quando se realiza o cultivo em sistemas fechados a área necessária é ainda menor. Além disso, o cultivo em reatores fechados dispensam grandes volumes de água comparada as demais culturas alimentícias.

Outra vantagem da utilização das microalgas é que podem ser cultivadas em águas degradadas e efluentes de diferentes fontes, como por exemplo, resíduo proveniente da bovinocultura e esgoto sanitário. Assim,

agrega-se valor ao tratamento de resíduos pelo aproveitamento da biomassa de microalgas para a produção de biocombustíveis, como o biodiesel.

Entretanto, existem diversas limitações na utilização do esgoto sanitário como meio de cultivo para microalgas e também no cultivo de biomassa de microalgas. Uma dessas limitações é a alta complexidade desse material, pois se trata de um efluente com diferentes materiais oriundos de higiene e dejetos humanos. Além disso, as características do esgoto variam de acordo com os hábitos da população e ao longo do tempo o que dificulta seu tratamento e reutilização.

Outras limitações existentes são as questões relacionadas diretamente com o cultivo das microalgas para a produção de biodiesel. Por exemplo, espécies com maiores teores de lipídeos e adaptáveis a diferentes condições climáticas. Outro fator limitante é a determinação de estratégias que permitam maior produtividade e aproveitamento da biomassa, além de reatores mais eficientes.

Com base nesse cenário, propôs-se nesse estudo a utilização de esgoto sanitário para o cultivo de microalgas visando a biorremediação do mesmo e a produção de biomassa para a produção de biocombustíveis.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 COMBUSTÍVEIS DE FONTES FÓSSEIS

Combustíveis são essenciais para o desenvolvimento humano há milhares de anos. Hoje os principais combustíveis de origem fóssil disponíveis são o petróleo, o carvão e o gás natural. A partir do petróleo obtêm-se diferentes combustíveis líquidos como a gasolina, o querosene e o diesel, além de outros materiais como o asfalto e o gás liquefeito do petróleo (BOAMAR, 2010).

À medida que a economia e a tecnologia mundial avançam, e o número da população aumenta, cresce também a demanda por combustível. Em 2005 houve um aumento no consumo de petróleo de 3,5%, que equivale a aproximadamente 2,8 milhões de barris por dia (Mb/d) (CNI, 2007). A perspectiva é que em 2015, esse consumo alcance os 103 Mb/d (CNI, 2007).

Esse consumo crescente não ocorre somente com o petróleo. Combustíveis como o gás natural e o carvão têm sido cada vez mais utilizados no mundo conforme pode ser observado na FIGURA 01.

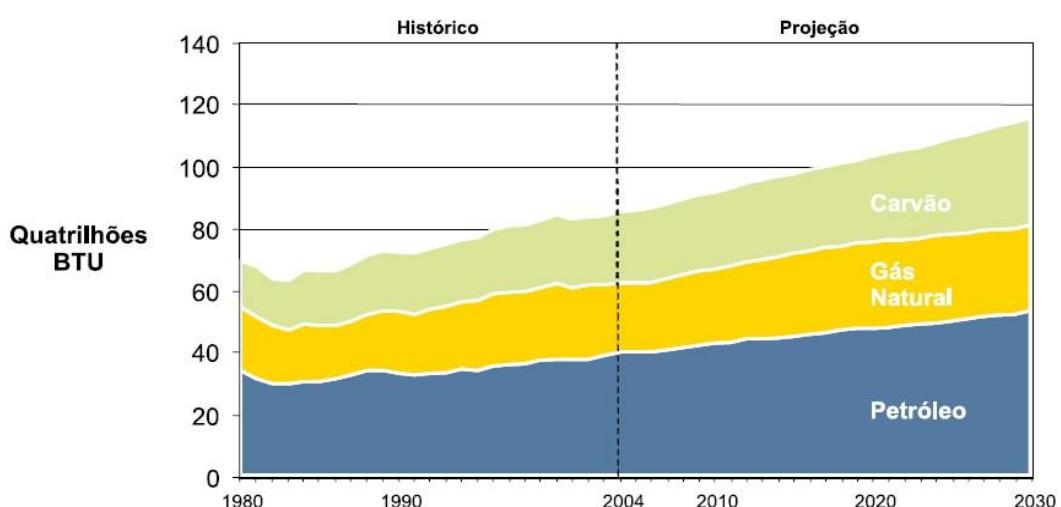


FIGURA 01 – CONSUMO MUNDIAL DE COMBUSTÍVEIS ATÉ 2030

Fonte: CNI (2007)

Muitas críticas são feitas ao uso de combustíveis fósseis, principalmente sobre o impacto ambiental associado a sua utilização e sobre a sua disponibilidade mundial. Além disso, há críticas quanto às emissões de gases e material particulado, que podem prejudicar a saúde da população em grandes centros urbanos. Alguns dos gases emitidos a partir da combustão de combustíveis utilizados para transporte são o dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), óxidos nitrosos (NO_x) e fluorocarbonetos (ATANABI *et al.*, 2012).

A emissão desses gases e materiais particulados provenientes da queima parcial dos combustíveis podem acarretar problemas respiratórios. Principalmente em grandes centros urbanos onde há maior concentração de veículos, e consequentemente a concentração de gases emitidos à atmosfera é maior.

Levando em conta que a queima de combustíveis fósseis causa muitos impactos ambientais e prejudica a saúde da população, é necessária a substituição dessa fonte energética. A utilização de biocombustíveis é uma possibilidade para isso, pois reduz a emissão de alguns gases prejudiciais à saúde e ao ambiente.

2.2 BIOCOMBUSTÍVEIS

A produção de biocombustíveis teve seu primeiro incentivo na década de 70, quando o petróleo estava dispendioso, e buscavam-se substitutos mais baratos ou mais confiáveis (BANSE *et al.*, 2008). Hoje, além do quesito custo, há também a preocupação com o meio ambiente, o que incentiva ainda mais a substituição do petróleo pelos biocombustíveis.

Dentre os principais biocombustíveis disponíveis estão o biodiesel e o bioetanol. O bioetanol é um combustível produzido a partir de processos fermentativos em biomassas que contenham açúcar e amido na sua composição, como cana-de-açúcar, milho ou grãos (HARUN e DANQUAH,

2011). O biodiesel é produzido a partir de diferentes fontes de oleaginosas, como por exemplo, a soja.

2.2.1 Biodiesel

A Lei federal nº 11.097 de 2005 define biodiesel como “*biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil.*” A Resolução nº 7 da ANP de 2008 completa esse conceito definindo biodiesel como “*combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais conforme a especificação contida no Regulamento Técnico, parte integrante desta resolução.*”

O biodiesel pode ser classificado em primeira, segunda e terceira geração. Na primeira geração estão aqueles provenientes de culturas comestíveis, como por exemplo, biodiesel de soja. O biodiesel de segunda e terceira geração compreendem aqueles obtidos a partir de fontes não comestíveis e resíduos, como por exemplo, mamona e palha.

Entre as diferentes fontes de óleo vegetal para a produção do biodiesel pode-se citar a palma, soja, milho, girassol, coco e colza (KOH e GHAZI, 2011). Os óleos vegetais são vantajosos, pois são biodegradáveis, mais fluidos se comparado com óleos de origem animal, possuem alto poder calorífico, e baixo teor de compostos sulfonados e aromáticos (KOH e GHAZI, 2011).

Os óleos de origem animal possuem grandes quantidades de ácidos graxos saturados, tornando-os sólidos a temperatura ambiente o que acarreta problemas na produção do biodiesel (LEUNG, WU e LEUNG, 2010).

Existem no mundo, aproximadamente 350 culturas oleaginosas com potencial para produção do biodiesel (ATABANI *et al.*, 2012), algumas dessas estão descritas na TABELA 01.

TABELA 01 – DIFERENTES FONTES DE ÓLEO PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

ÓLEOS COMESTÍVEIS (1ª GERAÇÃO)	ÓLEOS NÃO COMESTÍVEIS (2ª GERAÇÃO)	GORDURA ANIMAL E DEMAIS FONTES (3ª GERAÇÃO)
Soja Colza Açafrão Arroz Cevada Gergelim Girassol Amendoim Sorgo Trigo Milho Coco Canola Palma	<i>Jatropha curcas</i> Algodão Karanja Jojoba Semente de tabaco Semente de seringueira	Banha de porco Sebo bovino Gordura de aves Óleo de peixe Gordura de frango Bactérias Látex Algas Microalgas Fungos

FONTE: Adaptado de Atanabi *et al.* (2012)

Dentre as matérias-primas disponíveis, a soja é a mais utilizada. Um tema muito discutido quando se fala da soja como matéria-prima para o biodiesel, é o impacto que isso tem sobre a cultura alimentar. A maior porção da soja é composta por proteínas (78% de farelo proteico) sendo o restante óleo (AMARAL, 2009). É esse farelo que faz parte da indústria alimentícia da soja. Dessa maneira não cabe aumentar uma produção dessa planta visando o óleo, pois isso acarretaria em uma produção exagerada de farelo que não seria suportada pela demanda de mercado (AMARAL, 2009).

Além disso, a utilização da soja possui problemas relacionados ao seu cultivo, pois requer a aplicação de grandes volumes de agrotóxicos e fertilizantes. Além do mais, trata-se de uma cultura transgênica que possui impactos a longo prazo ainda desconhecidos.

O biodiesel a partir de microalgas é atrativo tendo em vista a produtividade de óleo por área se comparada a outras fontes de oleaginosas. Mesmo com uma percentagem de lipídeos menor comparada as demais oleaginosas. Esses micro-organismos podem atingir uma produtividade ate 114 vezes maior que o óleo de milho, por exemplo (TABELA 02).

Entretanto, o biodiesel possui alta viscosidade e baixa volatilidade, características que reduzem a eficiência de combustão, podendo provocar até o entupimento em algumas partes do motor (ONG *et al.*, 2011). Essas propriedades são fatores limitantes na utilização de biodiesel em motores a diesel e se caracterizam como desafios na cadeia produtiva de biodiesel.

2.3 MICROALGAS

O cultivo de microalgas é considerado uma alternativa para a independência energética que possuímos hoje com os combustíveis fósseis. Isso se deve a inúmeras razões, entre elas o baixo consumo de água no seu cultivo, o alto rendimento por área comparado a outras culturas e a possibilidade de se utilizar terras não agriculturáveis para tal cultivo (YEN *et al.*, 2013).

O metabolismo da microalga pode ser autotrófico, heterotrófico ou mixotrófico (FIGURA 02). No primeiro, as funções são regidas pela fotossíntese. No heterotrófico são disponibilizados nutrientes para que o metabolismo ocorra na ausência de luz. E por último, no cultivo mixotrófico ocorre à atuação de ambos os metabolismos citados anteriormente (MORAIS, 2011).

Além dos lipídeos, as microalgas possuem outros metabólitos de valor agregado, como por exemplo, carboidratos, proteínas e pigmentos que podem ser refinados e comercializados com diferentes aplicações (LAMMENS *et al.*, 2012). Dentre as principais espécies de microalgas cultivadas hoje no mundo, estão a *Chlorella sp.* e *Spirulina sp.*, utilizadas com a finalidade principal de suplementação alimentar; a *Dunaliella salina*, que é boa fonte de caroteno e a *Haematococcus pluvialis*, cultivada com o objetivo de produção de astaxantina (AZEREDO, 2012).

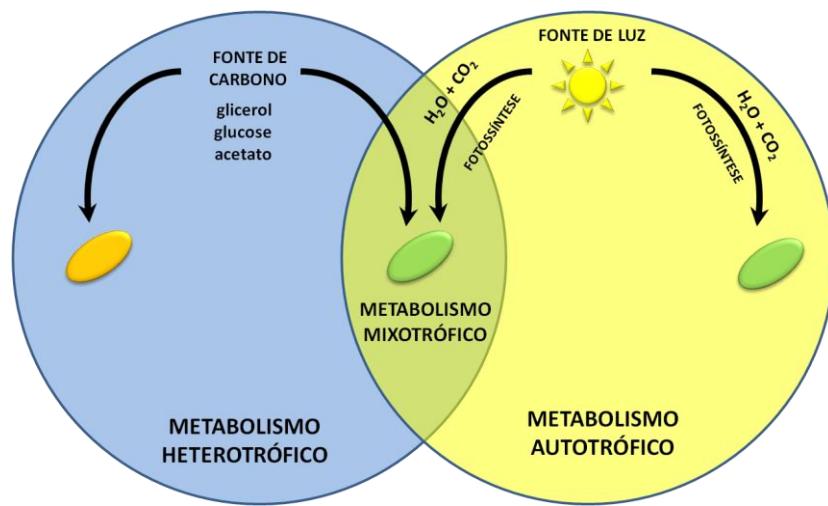


FIGURA 02 – ESQUEMA METABOLISMOS MICROALGAS.

FONTE: Adaptado de Mariano *et al.* (2010)

Os carboidratos são um dos compostos das microalgas com maior importância (YEN *et al.*, 2013). Nos dias de hoje, esses compostos possuem alto valor agregado, com diversas aplicações nas indústrias alimentícias, cosméticas, têxteis, lubrificantes, entre outras (ARAD e LEVY-ONTMAN, 2010).

Os lipídeos acumulados pelas microalgas são classificados de acordo com o número de carbono. Ácidos graxos com cadeia de 14-20 carbonos são utilizados na produção do biodiesel, enquanto aqueles com cadeias maiores são usados como suplementos alimentares, como por exemplo, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaeaxaenoico (DHA) (YEN *et al.*, 2013).

O número estimado de espécies conhecidas de microalgas e algas aproxima-se de dez milhões (BARSANTI e GUALTIERI, 2006). Com essa diversidade diferentes espécies são utilizadas para a produção de biodiesel, cada uma com sua peculiaridade e diferentes teores lipídios. A TABELA 03 apresenta teores lipídicos de diferentes espécies cultivadas com ar atmosférico e fototroficamente.

TABELA 03 – TEOR DE LIPÍDEOS EM DIFERENTES ESPÉCIES CULTIVADAS FOTOTROFICAMENTE APENAS COM AR ATMOSFÉRICO

ESPÉCIE DE MICROALGA	TEOR DE LIPÍDEOS (%)
<i>Chlorella emersordi</i>	25-34
<i>Chlorella vulgaris</i>	5
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	17
<i>Nannochloropsis sp.</i>	29
<i>Scenedesmus obliquus</i>	13
<i>Spirulina máxima</i>	4

FONTE: Adaptado de CHEN *et al.* (2011)

2.3.1 Formas de Cultivos

As microalgas podem ser cultivadas de diferentes formas, que são divididas basicamente em dois grandes grupos: cultivos abertos e fechados. Os cultivos abertos podem ser subdivididos em águas naturais (lagos e lagoas) e lagos artificiais. Enquanto os sistemas fechados são denominados fotobioreatores.

Os sistemas abertos, são os que mais se assemelham com o habitat natural das microalgas, são tanques entre 15 e 20 cm de profundidade com pás que promovem a aeração do cultivo (PULZ, 2001). Esse modo de cultivar possui alguns inconvenientes como perdas por evaporação, contaminações e difusão de CO₂. Além disso, necessita-se de grandes áreas inundadas para que haja um crescimento significativo de microalgas, uma vez que os tanques não podem apresentar grandes profundidades, pois isso dificulta a incidência luminosa (FIGURA 03).



FIGURA 03 – SISTEMAS ABERTOS

FONTE: Photobioreactor (2013)

Os cultivos em fotobiorreatores fechados (FIGURA 04) diferem dos cultivos abertos principalmente pelo fato de tornar possível o controle de diversos parâmetros importantes, além de reduzir a difusão gasosa, a contaminação e a evaporação (PULZ, 2001). Outra vantagem desse tipo de cultivo é a utilização de menores áreas e terras inapropriadas para qualquer outro tipo de cultura, através da utilização de fotobiorreatores compactos (FIGURA 06).



FIGURA 04 – SISTEMAS FECHADOS

FONTE: Photobioreactor (2013)

A TABELA 04 está apresentando um comparativo de diferentes características entre sistemas abertos e fotobiorreatores estimando uma produtividade anual de biomassa de 100.000 kg. Com base nessa estimativa, observa-se que os sistemas fechados se destacam quanto a menor área necessária, o maior rendimento de óleo e a facilidade de controle de parâmetros e processo quando comparado aos sistemas abertos.

TABELA 04 – COMPARATIVO SISTEMAS ABERTOS E FECHADOS

PARÂMETRO	SISTEMAS ABERTOS	SISTEMAS FECHADOS
Área necessária (m ²)	7828	5681
Produtividade anual de biomassa (kg)	100.000	100.000
Rendimento de óleo (m ³ ha ⁻¹)	56,8	78,2
Controle da contaminação	Difícil	Fácil
Controle do processo	Difícil	Fácil

FONTE: Adaptado de Satyanarayana, Mariano e Vargas (2011)

2.3.2 Cultivo de microalgas no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS)

O NPDEAS, localizado na Universidade Federal do Paraná, tem como objetivo tornar-se um prédio autossustentável pela produção de energia oriunda das microalgas. Hoje o núcleo cultiva microalgas a fim de extrair o óleo e posteriormente produzir o biodiesel.

Para a produção do biodiesel de microalgas, as instalações no prédio contemplam diversas etapas produtivas, desde o cultivo dos micro-organismos até o processamento do óleo. O cultivo inicia-se em laboratório pelo preparo do inóculo, que terá o seu volume aumentado gradativamente até o cultivo em fotobioreatores compactos.

Após determinado período de cultivo, é realizada a coleta da biomassa, que passa por um processo de secagem antes da extração do óleo. Os resíduos gerados nos processos são biodigeridos e reaproveitados como fonte de nutrientes e para a produção de biogás. Na FIGURA 05 observa-se um fluxograma das operações realizadas no NPDEAS.

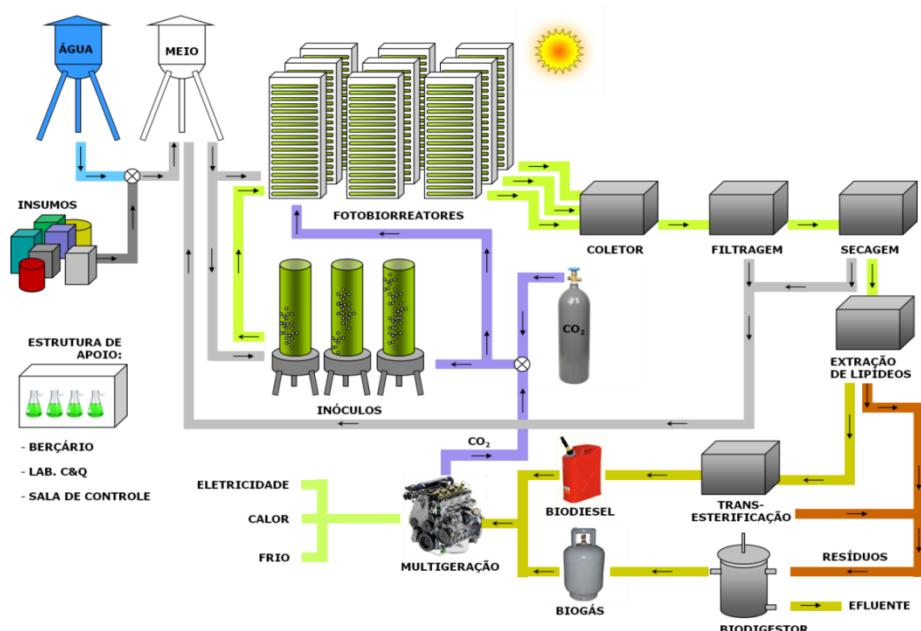


FIGURA 05 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NO NPDEAS

FONTE: Adaptado de Satyanarayana, Mariano e Vargas (2011).

Para realização dos cultivos em sistema fechado, o NPDEAS desenvolveu e construiu fotobiorreatores (FBR) tubulares compactos com volume de 10 m³ (FIGURA 06). Tais FBRs são compostos por canos de PVC transparentes, com uma organização e estrutura que os disponibiliza de modo compacto (10 m²). São aproximadamente 3,5 km de canos no total. As microalgas percorrem toda essa estrutura em ramais e passam por um degaseificador onde ocorre a troca gasosa.



FIGURA 06 – FOTOBIORRETORES COMPATOS NO NPDEAS

FONTE: A autora

Além dos FBRs compactos, o NPDEAS desenvolveu reatores fechados chamados *airlifts* (FIGURA 07). Esses reatores são fotobiorreatores tubulares desenvolvidos com o intuito de promover o tratamento de efluentes líquidos e emissões através do crescimento autotrófico de microalgas. Tais reatores foram construídos em PVC transparente com altura de 300 cm e diâmetro interno de 5 cm (MIYAWAKI *et al.*, 2013).



FIGURA 07 – REATORES AIRLIFTS
FONTE: A autora

O NPDEAS tornou-se referência no desenvolvimento de fotobiorreatores para produção de biomassa de microalgas. No total, já foram produzidas 17 dissertações de mestrado, 1 tese de doutorado, 12 artigos em periódicos, 10 trabalhos de conclusão de curso e mais de 57 trabalhos completos em anais de congressos. A TABELA 05 resume as principais produções científicas desenvolvidas pelo NPDEAS de 2008 a 2014.

TABELA 05 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DO NPDEAS

PATENTES	
Vargas <i>et al.</i> , 2011	Photobioreactor System (Depósito nos Estados Unidos da América) US2012088296-A1 / WO2012050608-A1.
Miyawaki <i>et al.</i> , 2013	Fotobiorreator tubular para tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões. (BR1020130263, 14 out. 2013).
ARTIGOS	
Ribeiro <i>et al.</i> , 2008	Transient modeling and simulation of compact photobioreactor.
Torrens <i>et al.</i> , 2008	Biodiesel from microalgae: the effect of fuel properties on pollutant emissions.
Morais <i>et al.</i> , 2009	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> microalgae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions.
Ribeiro <i>et al.</i> , 2009	The transient temperature behavior in compact tubular microalgae photobioreactors.
Carvalho Júnior <i>et al.</i> , 2011	Microalgae biodiesel via in situ methanolysis.
Satyanarayana, Mariano e Vargas, 2011	A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials.
D'aquino <i>et al.</i> , 2012	A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012a	Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais.
Oliveira <i>et al.</i> , 2012b	Production of methyl oleate with a lipase from an endophytic yeast isolated from castor leaves.

continua

TABELA 05 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DO NPDEAS - continuação

Oliveira <i>et al.</i> , 2013a	Utilização de resíduos da agroindústria para a produção de enzimas lipolíticas por fermentação submersa.
Silva <i>et al.</i> , 2013	Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. (aceito para publicação).
Sugai-Guerios <i>et al.</i> , 2013	Mathematical model of the CO ₂ solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. (aceito para publicação).
Oliveira, <i>et al.</i> , 2013b	Lipase production by endophytic yeast through factorial desing.
Balmant <i>et al.</i> , 2014	Optimal operating conditions for maximum biogás production in anaerobic bioreactors.

CAPÍTULO DE LIVRO

Soares <i>et al.</i> , 2010	Metodologias para obtenção de biomassa e extração de lipídeos de microalgas marinhas. In: Pereira, T. C. G. (Copel - Paraná). Dossiê de Pesquisa Fontes Renováveis de Energia.
-----------------------------	--

DISSERTAÇÕES E TESES

Carvalho Júnior, 2010	Desenvolvimento e análise energética do processo de obtenção do biodiesel de microalga por metanolise in situ.
Soares, 2010.	Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo.
Morais, 2011	Análise e desenvolvimento de aquicultura da microalga <i>Phaeodactylum tricornutum</i> em crescimento autotrófico e mixotrófico em fotobioreatores compactos.

continua

TABELA 05 – PRINCIPAIS PRODUÇÕES CIENTÍFICAS DO NPDEAS - continuação

D'Aquino, 2012	Desenvolvimento de materiais poliméricos transparentes para fotobiorreatores.
Lemos, 2012	Desenvolvimento de sistema de tratamento e reciclagem de meio de cultivo de microalgas para produção de biodiesel.
Dilay, 2013	Modelagem e simulação para engenharia de sistemas: acondicionamento de eletrônicos, navios elétricos e fotobiorreatores.
Dzuman, 2013	Efeito da reciclagem repetida do meio de cultivo da microalga <i>Scenedesmus sp.</i> para a produção de biodiesel.
Oliveira, 2013a	Síntese enzimática do biodiesel de microalgas a partir de lípases produzidas por fungos endofíticos
Oliveira, 2013b	Produção de biomassa de microalgas <i>Scenedesmus sp.</i> em efluente de bovinocultura biodigerido.
Sakuma, 2013	Desenvolvimento e análise experimental de biodigestores modulares de baixo tempo de residência.
Taher, 2013	Biodiesel de microalgas cultivadas em dejeto suíno biodigerido
Miyawaki, 2014	Purificação de biogás através de cultivo de microalgas em resíduos agroindustriais.

FONTE: Adaptado de Taher, 2013.

2.3.3 Condições de cultivo

Há diversos fatores que podem interferir no cultivo de microalgas. Os principais fatores são a temperatura, luz, pH, aeração e os nutrientes disponíveis no meio. Além de fatores biológicos que variam de acordo com a espécie e seu metabolismo.

A temperatura deve ser mantida próxima daquela onde o organismo foi coletado e cresce naturalmente. Por exemplo, uma microalga encontrada em ambientes polares pode apresentar dificuldades em cultivos realizados com temperaturas tropicais. É comum estabelecer um valor intermediário entre 18 a 20 °C para diferentes espécies (BARSANTI e GUALTIERI, 2006). Durante o cultivo a temperatura deve manter-se constante.

A luz também é um importante fator no cultivo, visto que as microalgas são seres fotossintetizantes. No cultivo de microalgas, a demanda por luz aumenta com o passar do tempo. Dessa forma, uma correta suplementação de luz é necessária para um crescimento adequado das microalgas. Uma alta suplementação luminosa na fase inicial de crescimento pode causar foto-inibição (BARSANTI e GUALTIERI, 2006; RASHID *et al.*, 2013).

O pH ideal para as microalgas pode variar entre 7 e 9 (BARSANTI e GUALTIERI, 2006). O pH influencia na solubilidade de minerais e dióxido de carbono no meio de cultivo, o que causa influência direta ou indireta sobre o metabolismo das microalgas (KARAM e SOCCOL, 2007).

A aeração dos cultivos, também é um fator limitante, pois impede que as células sedimentem, mantendo-as em suspensão. Além disso, o sistema permanece homogêneo e todas as células são expostas as mesmas condições de cultivo. Essa aeração pode ser realizada de diferentes maneiras, através de pás (como utilizada em sistemas abertos), ou através da utilização de bombas de recirculação (como utilizada em sistemas fechados no NPDEAS).

Além de todos os fatores citados, há também a disponibilidade de nutrientes. Pode-se dizer que os principais nutrientes para o crescimento da microalga são carbono, nitrogênio e fósforo. Esses compostos são encontrados em diferentes meios sintéticos como o meio CHU (CHU, 1942) em

concentrações saturantes. O nitrogênio é utilizado principalmente na síntese de aminoácido e proteínas e pode limitar o crescimento microbiológico (HORNES *et al.*, 2010). Esse componente é essencial para o crescimento das microalgas, e pela privação desse composto, ou a partir de determinado momento onde não há mais fonte de nitrogênio disponível, diz-se que essa é uma condição de “estresse” à microalga. Assim, o metabolismo é desviado para a síntese de lipídeos.

2.4 ESGOTO SANITÁRIO

Os questionamentos ambientais sobre o esgoto sanitário são muitos, principalmente quando se leva em consideração o fato de que nem toda a população tem acesso a um sistema de tratamento adequado. Mesmo com o desenvolvimento atual e crescente, parte da população não possui rede coletora de esgoto e, portanto, têm seus dejetos descartados inadequadamente muitas vezes em rios ou córregos (IBGE, 2010). Na FIGURA 08 está apresentado o número de pessoas no Brasil que em 2008 não possuíam acesso à rede coletora de esgoto. Aproximadamente 34,8 milhões de pessoas, o equivalente a 18% da população brasileira estava exposta aos riscos associados à falta de saneamento básico (IBGE, 2010).

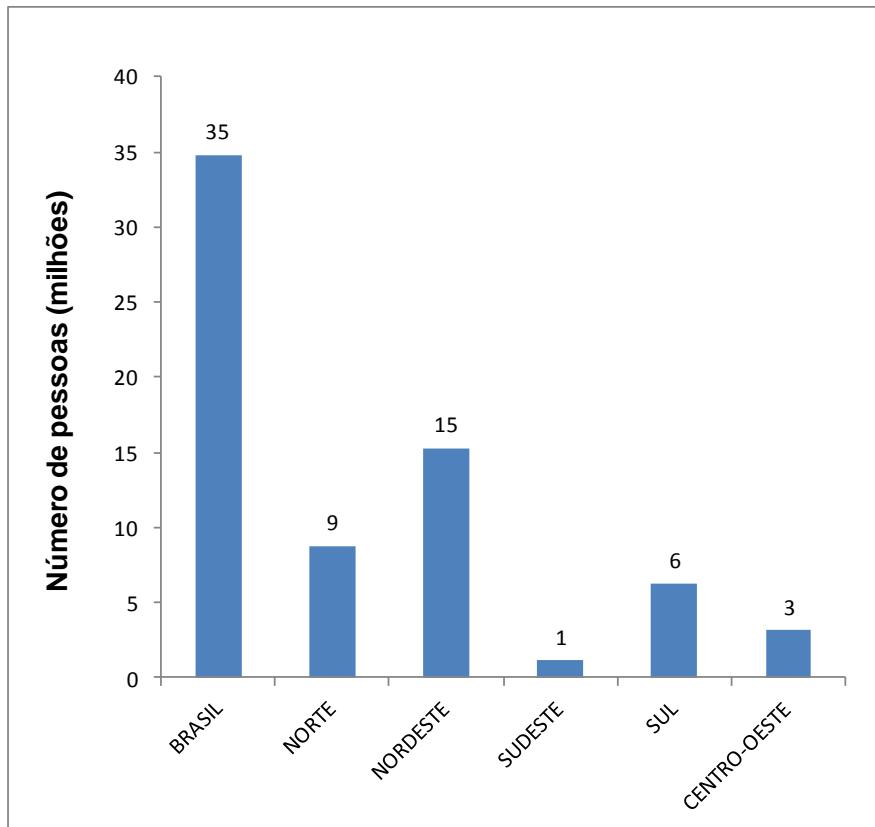


FIGURA 08 – NÚMERO DE PESSOAS (MILHÕES) SEM ACESSO À REDE COLETORA DE ESGOTO - 2008

FONTE: Adaptado de IBGE (2010)

A região onde a falta da rede coletora era maior foi a Nordeste atingindo cerca de 15 milhões de habitantes. Em segundo lugar ficou a região Norte do país com cerca de 9 milhões de pessoas. Na região Sul aproximadamente 6 milhões de pessoas não possuíam acesso ao saneamento básico em 2008 e a região Centro-Oeste, cerca de 3 milhões de habitantes sem acesso ao serviço. No Sudeste, não tinham rede coletora de esgoto cerca de 1 milhão de pessoas. Tudo isso acarreta em um grave impacto ambiental, pois esse efluente é rico em material orgânico e estão fora dos padrões exigidos pelas legislações ambientais para lançamento em corpos receptores.

O esgoto sanitário possui em sua composição nitrogênio e fósforo, compostos que causam a eutrofização de lagos (NUVOLARI *et al.*, 2011). A eutrofização dos corpos hídricos é o excesso de nutrientes que causa crescimento descontrolado de algas e impactos sobre a biota local, podendo causar a morte de alguns organismos (MOTA E VON SPERLING, 2009). Além

disso, o esgoto sanitário é fonte de transmissão de doenças, o que caracteriza o saneamento não apenas como um problema ambiental, mas também de saúde e econômico (MOTA E VON SPERLING, 2009). Um estudo realizado por Trata Brasil (2010) aponta que 88% das mortes por diarreia no planeta são causados por condições precárias de saneamento básico. Dessa forma, quando se investe em saneamento se previne o surgimento de doenças provenientes do esgoto, que gerariam gastos ao sistema de saúde e mortandade principalmente de crianças.

Dessa forma, o tratamento e a extensão do saneamento à totalidade da população é necessidade imediata. A biodigestão anaeróbia é uma das formas de tratamento podendo-se utilizar o biogás gerado nessa etapa para a produção de energia. Porém esse tratamento não reduz completamente a carga orgânica do material e é necessária uma etapa de tratamento para remoção da carga excedente em lodos de tratamento (VON SPERLING, 2002)

As características do esgoto sanitário dependem de variáveis como o clima e os hábitos da população, além de se modificarem com o tempo, o que torna sua caracterização complexa (PIVELI, 2013). Segundo a NBR 8160 (ABNT, 1999) o esgoto sanitário é o “*despejo proveniente do uso da água para fins higiênicos*”. A dificuldade de caracterização está relacionada a qualidade desse efluente. Como o esgoto sanitário é o despejo proveniente de diversas atividades de limpeza muitos componentes podem ser de origem química e varia ao longo do tempo.

Com o desenvolvimento econômico todas as pessoas se habituaram a utilizar mais água no seu cotidiano em diversas atividades. Assim o volume de esgoto gerado é grande como apresentado na TABELA 06, atingindo até 8 milhões de m³ por dia de esgoto tratado (IBGE, 2010). Não há informações seguras sobre o volume gerado no Brasil, porém é comum se convencionar uma geração per capita de 54 e 100 g/habitante.dia para a Demanda Bioquímica de Oxigênio de cinco dias (DBO₅) e para a Demanda Química de Oxigênio (DQO), respectivamente (PIVELI, 2013). Esses dois parâmetros são comumente utilizados para estimar o teor de material orgânico.

A porção do esgoto que é coletada no Brasil é submetida a tratamento biológico associado a etapas físicas e/ou químicas. As etapas físicas

geralmente consistem na aplicação de metodologias de precipitação, filtração sedimentação ou flotação (MOTA E VON SPERLING, 2009).

TABELA 06 - VOLUME TOTAL DE ESGOTO TRATADO POR DIA (m³)

REGIÃO DO PAÍS	VOLUME (m ³)
Norte	78.750
Nordeste	1.337.944
Sudeste	5.017.621
Sul	1.343.923
Centro-oeste	682.352
BRASIL	8.460.590

FONTE: Adaptado de IBGE (2010)

Para que esse efluente possa ser lançado em corpos hídricos, devem-se seguir os padrões de lançamentos exigidos pela Resolução CONAMA nº 430/2011 que complementa a Resolução CONAMA nº 357/2005. Essas resoluções contêm limites para diferentes compostos inorgânicos, entre outros parâmetros como DBO₅, por exemplo.

Com tais características e composição, o esgoto é um potencial meio de cultivo alternativo para o cultivo de microalgas, uma vez que esses organismos necessitam principalmente de nitrogênio e fósforo para seu crescimento. Ao crescerem, as microalgas consomem esses nutrientes e consequentemente promovem o tratamento desse efluente, facilitando o seu descarte adequado. Isso pode ser observado em experimentos como o desenvolvido por Alva *et al.* (2013). Os autores trabalharam com esgoto municipal sem tratamento, após pré-tratamento e com enriquecimento pela adição de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio). Em todos os meios houve crescimento de biomassa e remoção de nutrientes. A maior porcentagem de remoção de nutrientes foi no meio sem nenhum tratamento. Nesse experimento os autores utilizaram o esgoto sem diluição com uma concentração inicial de $49,4 \pm 1,3 \text{ mg.L}^{-1}$ de nitrogênio amoniacal e orgânico no meio sem tratamento.

Além desse estudo, em 2009, Woertz *et al.*, realizaram experimentos com águas residuais municipais coletadas na Califórnia testando diferentes tempos de retenção hidráulica (TRH) e taxas de carregamento diária. Para o TRH de 4 dias foi utilizada uma taxa de carregamento diária de 200 mL. Para o TRH de 3 e 2 dias, carregamento de 267 e 400 mL respectivamente. Além disso o TRH de 3 dias foi testado também sem a injeção de CO₂ (apenas injeção de ar) diferente dos demais.

Tal estudo foi conduzido de forma semicontinua, em reatores de 1 L com volume útil de 800 mL e sem diluição prévia. Foi utilizada uma mistura de diferentes espécies de microalgas. Dessa forma, ao final de 18 dias, os autores avaliaram a redução nos níveis de nitrogênio amoniacal total e fosfato e os resultados podem ser observados na TABELA 07.

TABELA 07 – REDUÇÃO DE PARAMÉTROS EM CULTIVO COM ÁGUA RESÍDUAL MUNICIPAL

	Redução de Nitrogênio Amoniacal	Redução de Fosfato
TRH 4 – com CO ₂	>99%	>99%
TRH 3 – com CO ₂	>99%	>99%
TRH 3 – apenas ar	84%	>99%
TRH 3 – com CO ₂	98%	93%

FONTE: Adaptado de Woertz *et al.*, 2009.

3 DESAFIOS

O custo elevado da produção de microalgas está diretamente ligado à preparação do meio de cultivo com os nutrientes necessários ao crescimento das microalgas em concentrações saturantes. Outro desafio é o melhor aproveitamento da biomassa. Atualmente, grande parte dos cultivos são realizados em sistemas abertos que possuem baixo aproveitamento de biomassa. Há também a necessidade do desenvolvimento de fotobiorreatores que permitam maior rendimento de biomassa. Além disso, como existem diversas espécies de microalgas, a escolha de espécies que se adaptam mais facilmente a diferentes climas e possuam concentrações de metabólitos (lipídeos) também é um desafio para essa cadeia produtiva. A redução do custo pela substituição do meio sintético também é importante desafio no cultivo de microalgas. O esgoto sanitário apresenta compostos necessários para o crescimento da microalga, o que permite que esse seja utilizado como meio alternativo. Porém esse material é de difícil caracterização e a determinação da melhor condição de meio é influenciada por diferentes parâmetros, como por exemplo, a sazonalidade do esgoto sanitário.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Definiu-se como objetivo deste trabalho utilizar o esgoto sanitário como meio de cultivo alternativo para as microalgas, visando a biorremediação desse efluente pela produção de biomassa de microalgas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cinco metas foram estabelecidas para atingir o objetivo geral. A primeira delas é a caracterização do esgoto sanitário biodigerido através de análises de parâmetros físicos e químicos. A meta seguinte foi a avaliação do crescimento da microalga utilizando esgoto como meio de cultivo em escala laboratorial. Após essa meta, foi determinado o aumento da escala e das concentrações do meio de cultivo em reatores *airlift* de 12 L. Além disso, na terceira meta avaliou-se a porcentagem dos lipídeos ao final do cultivo. A quarta meta, compreende na produção de biomassa de microalgas reproduzindo a melhor condição obtida da meta anterior. Finalmente, avaliou-se a capacidade de biorremediação da microalga pela análise e comparação de parâmetros físicos e químicos no esgoto após a separação da biomassa de algas. Os objetivos específicos estão descritos como metas na FIGURA 09, que além de citar as metas aponta as estratégias adotadas para alcançá-las.

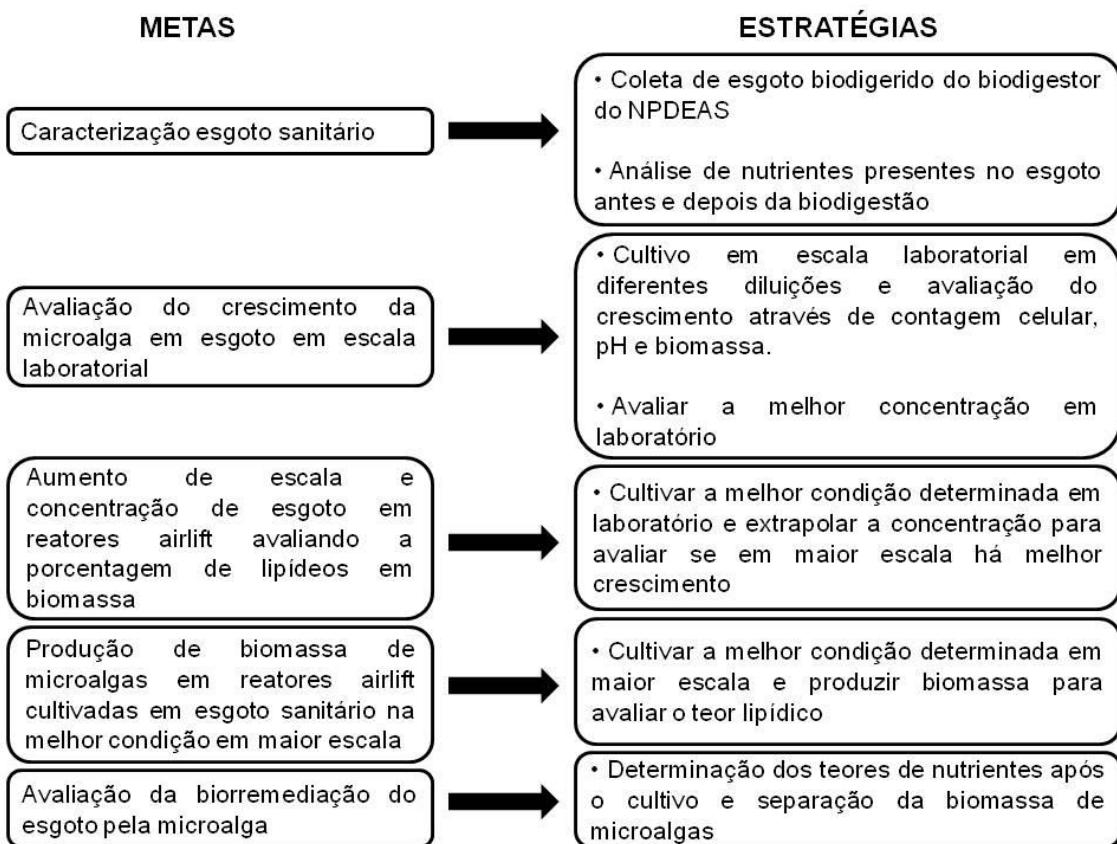


FIGURA 09 – METAS E ESTRATÉGIAS DEFINIDAS PARA ALCANÇA-LAS

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 COLETA E MANUTENÇÃO DO ESGOTO SANITÁRIO BIODIGERIDO

O esgoto sanitário utilizado nesta dissertação é proveniente do prédio do NPDEAS e da rede coletora da Universidade Federal do Paraná (UFPR). A FIGURA 10 mostra um fluxograma apontando a trajetória do esgoto sanitário. Tal resíduo foi biodigerido em um biogestor de fluxo ascendente (FIGURA 10) localizado também nas dependências do núcleo já citado. Foram coletados 200 L de efluente no mês de junho e armazenado em bombonas durante cinco meses (FIGURA 12).

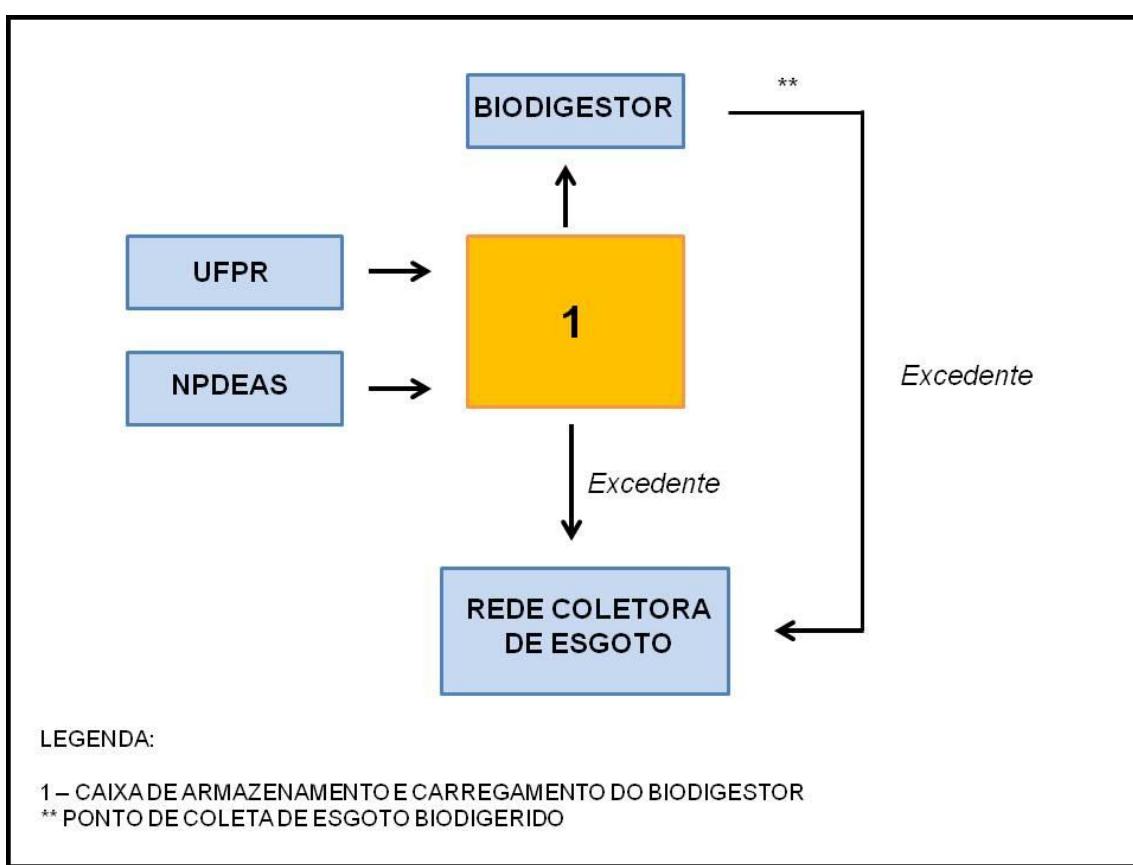


FIGURA 10 – FLUXOGRAMA COLETA E BIODIGESTÃO DO ESGOTO SANITÁRIO DA UFPR E DO NPDEAS

FONTE: A autora

Na FIGURA 11 observa-se uma caixa de água a direita onde o esgoto é armazenado e posteriormente carregado ao biodigestor. O cano a esquerda também está conectado a outra caixa de água de armazenamento. A biodigestão consiste em uma etapa de tratamento biológico pela atividade de micro-organismos em anaerobiose.



FIGURA 11 – BIODIGESTOR DE FLUXO ASCENDENTE DO NPDEAS
FONTE: A autora



FIGURA 12 – BOMBONA PARA ARMAZENAMENTO DE ESGOTO
FONTE: A autora

5.2 MEIO DE CULTIVO E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Foram realizados em escala laboratorial e em reatores tipo *airlift*, ambos em batelada. Os experimentos laboratoriais foram realizados em frascos tipo Erlenmeyer de 2L, sem fotoperíodo (2 lâmpadas de 40 W cool daylight; 24h de luz), sob aeração continua com injeção de ar atmosférico comprimido ($2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) em sala climatizada (22°C), com volume útil de 1,8 L. A escolha de não utilizar fotoperíodo foi baseada no estudo de Soares (2010), onde o maior crescimento celular foi em cultivo com 24 horas de luz. Apenas o meio controle CHU modificado (ANEXO 01)(adaptado de CHU, 1942) foi autoclavado, o efluente foi diluído em 10%, 15% e 25%. As diluições do efluente foram estabelecidas com base em experimentos anteriores do NPDEAS onde se visa alcançar proporções de nitrogênio e fósforo semelhantes ao meio controle CHU para o crescimento das microalgas. A FIGURA 13 apresenta a disposição dos frascos de cultivo. Os cultivos foram realizados em triplicata e em batelada.

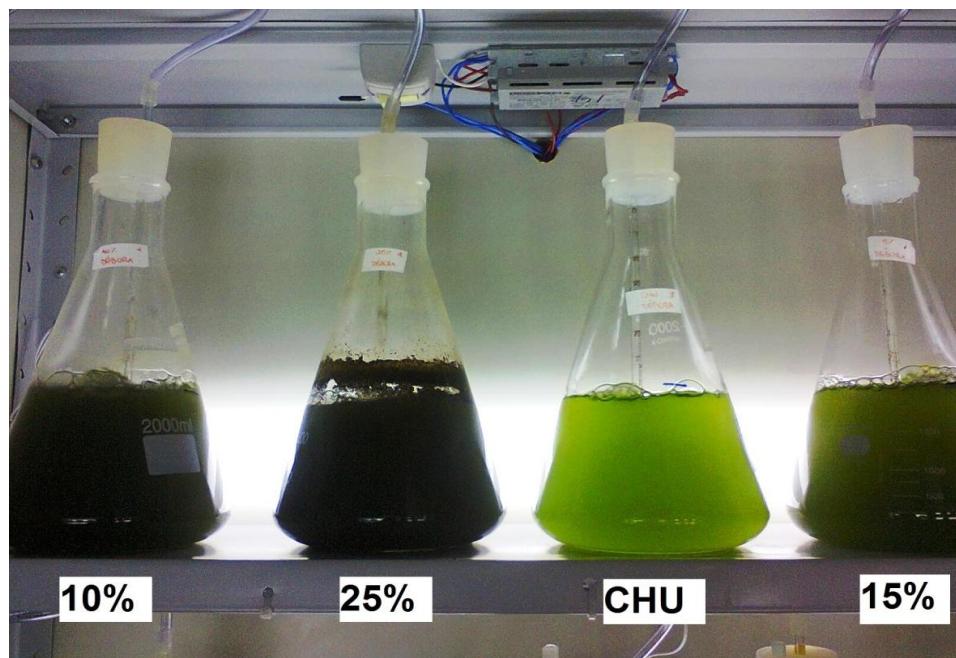


FIGURA 13 – DISPOSIÇÃO DOS FRASCOS PARA O EXPERIMENTO EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

Os reatores *ailifts* são fotobiorreatores tubulares que foram desenvolvidos com o objetivo de tratar efluentes líquidos e emissões poluentes através do cultivo autotrófico de microalgas pelo NPDEAS. É composto por uma válvula de entrada inferior de ar ou gás que são difundidos ao passar por uma membrana porosa. Essa membrana propicia a criação de microbolhas na coluna ascendente de transporte de gases. A aeração por microbolhas melhora a troca gasosa bem como a purificação e mitigação de gases. Além disso, a aeração promove a circulação do meio, dispensando a utilização de bombas. O fotobiorreator *airlift* foi construído em PVC transparente, com um diâmetro interno de 5 cm e uma altura de 300 cm, perfazendo um volume nominal de trabalho de 12 L (FIGURA 14).



FIGURA 14 – CULTIVOS EM REATORES TIPO AIRLIFT
FONTE: A autora

Os cultivos nos reatores foram realizados sem controle de temperatura, expostos as variações de temperatura e luminosidade do ambiente. A aeração

e agitação foram realizadas também com injeção de ar atmosférico comprimido, com fluxo de ar de aproximadamente $4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$. O meio de cultivo controle CHU modificado (CHU, 1942) corresponde a um meio sintético contendo todos os nutrientes necessários ao crescimento da microalga em concentrações saturantes. Esse meio escolhido é utilizado como padrão pelo NPDEAS por apresentar maior crescimento de biomassa para a microalga de escolha em comparação a outros meios testados pelo grupo.

5.3 SELEÇÃO DA MICROALGA

A microalga de escolha foi isolada a partir da rede de abastecimento de água e em função do seu desempenho em comparação as outras microalgas testadas foi escolhida como modelo de estudo pelo grupo NPDEAS desde 2009. O repique e manutenção da cepa do gênero *Scenedesmus* (FIGURA 15) deram-se em sala climatizada. Pela maneira em que tal espécie cresceu, essa mostrou-se robusta e adaptada às condições ambientais disponível nos municípios de Curitiba o que culminou na sua utilização.



FIGURA 15 – MICROALGA DO GENÉRO *Scenedesmus*

FONTE: Scenedesmus (2013)

5.4 ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO AO LONGO DO CULTIVO

Para acompanhar o crescimento microalgal foram realizadas diariamente diferentes análises, como contagem celular, biomassa seca e pH. A análise de pH é acessória, não podendo ser realizada isoladamente uma vez que outros fatores além do crescimento da espécie em questão contribuem para o seu acréscimo. Dessa forma a contagem celular é indispensável para assegurar que há crescimento da microalga. Além disso, a análise de biomassa seca nos permite avaliar o aumento de biomassa ao longo do cultivo.

5.4.1 Contagem Celular

A contagem celular foi realizada diariamente, em triplicata, com o auxílio de uma Câmara de Neubauer (FIGURA 16) em microscópio com aumento de 400x (LOURENÇO, 2006). Os dados a serem apresentados compreendem a média das contagens \pm duas vezes o desvio padrão e estão na ordem de grandeza de cel. mL^{-1} (células por mililitro de cultivo).



FIGURA 16 – CÂMARA DE NEUBAUER UTILIZADA PARA CONTAGEM CELULAR
FONTE: A autora

5.4.2 Biomassa seca

A análise de biomassa seca consiste em um método gravimétrico, foi realizada diariamente e em triplicata. Para a realização dessa análise foi utilizada balança analítica da marca Shimadzu, modelo AUW220D com resolução de 0,0001g calibrada pelo IPEM-PR (Instituto de Pesos e Medidas do Paraná) de acordo com a NBR ISO/IEC 17025 sob o nº 155. Os dados de biomassa são expressos em g.L⁻¹. Para isso, microfiltros de fibra de vidro (marca Macherey-Nagel GF-1, diâmetro de 47 mm) foram levados à estufa a 60°C até massa constante para assegurar a completa retirada de umidade. Após as massas dos filtros secos serem aferidas, uma alíquota conhecida (10 mL) foi filtrada com o auxílio de uma bomba a vácuo (FIGURA 17) e os filtros foram submetidos novamente a completa secagem. Novamente, a massa dos filtros com biomassa e secos foi aferida.



FIGURA 17 – APARATO PARA FILTRAÇÃO

FONTE: Taher (2013)

O cálculo da biomassa foi realizado a partir da equação a seguir.

$$Bs(g.L^{-1}) = \frac{F_2 - F_1}{V} \quad (4)$$

onde:

Bs = biomassa seca da amostra ($g.L^{-1}$)

F_1 = massa do microfiltro seco (g)

F_2 = massa do microfiltro com biomassa seca (g);

V = volume de cultivo filtrado (L).

Como o cultivo foi realizado em esgoto sanitário (e esse possui material sólido que pode interferir nessa metodologia) foi realizada então uma correção teórica das medições. Tal correção consiste na subtração da biomassa inicial dos cultivos de todos os outros dias do mesmo cultivo (Δ biomassa), a fim de apresentar nos gráficos apenas o acréscimo de biomassa que se dá pelo crescimento das microalgas.

5.4.3 Determinação de pH

O pH dos cultivos foi medido diariamente em phmetro digital da marca Gehaka PG 1800. O equipamento foi calibrado conforme as especificações de fábrica utilizando solução tampão 7,00 e 10,00 antes da realização das medidas. Esse gás confere pH ácido ao meio, então a medida que as microalgas o consomem e crescem, o pH aumenta. É uma análise acessória, pois quando o cultivo foi realizado com esgoto, o pH inicial apresentou caráter alcalino, o que por sua vez dificulta a relação indireta com o consumo de dióxido de carbono. Essa análise não é representativa para avaliação de crescimento de biomassa.

5.5 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA E DOSAGEM DE LIPÍDEOS TOTAIS

Para a recuperação da biomassa foi realizada uma etapa de floculação, seguida de filtragem e secagem. A floculação ocorreu pela adição de cloreto férrico hepta-hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e agitação em duas etapas. Primeiramente agitação rápida (500 rpm) por 2 minutos seguida de uma agitação lenta (250 rpm) por 5 minutos. O cloreto férrico foi adicionado em quantidade suficiente para obter-se uma solução de $0,3 \text{ mmol.L}^{-1}$ no cultivo. Em seguida aguardou-se a sedimentação, recuperou-se o sobrenadante e o sedimentado foi filtrado (FIGURA 18). A biomassa filtrada foi transferida para placas de *petri* onde foi seca (FIGURA 19). Assim que a biomassa secou, essa foi então macerada a fim de aumentar a superfície de contato facilitando a extração dos lipídeos por solventes.

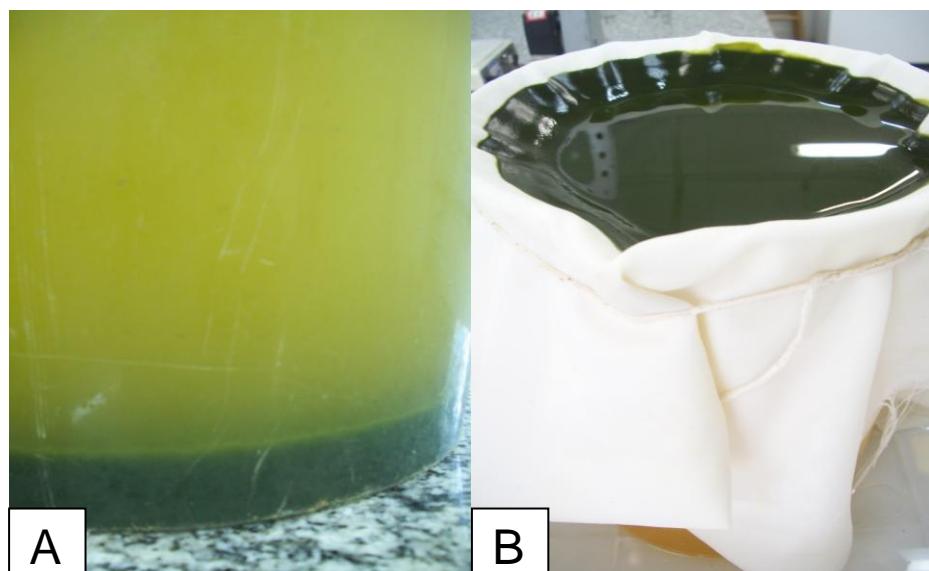


FIGURA 18 – SEDIMENTAÇÃO E FILTRAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL. (A) BIOMASSA SEDIMENTADA E SOBRENADANTE; (B) BIOMASSA ÚMIDA EM PROCESSO DE FILTRAÇÃO.

FONTE: A autora

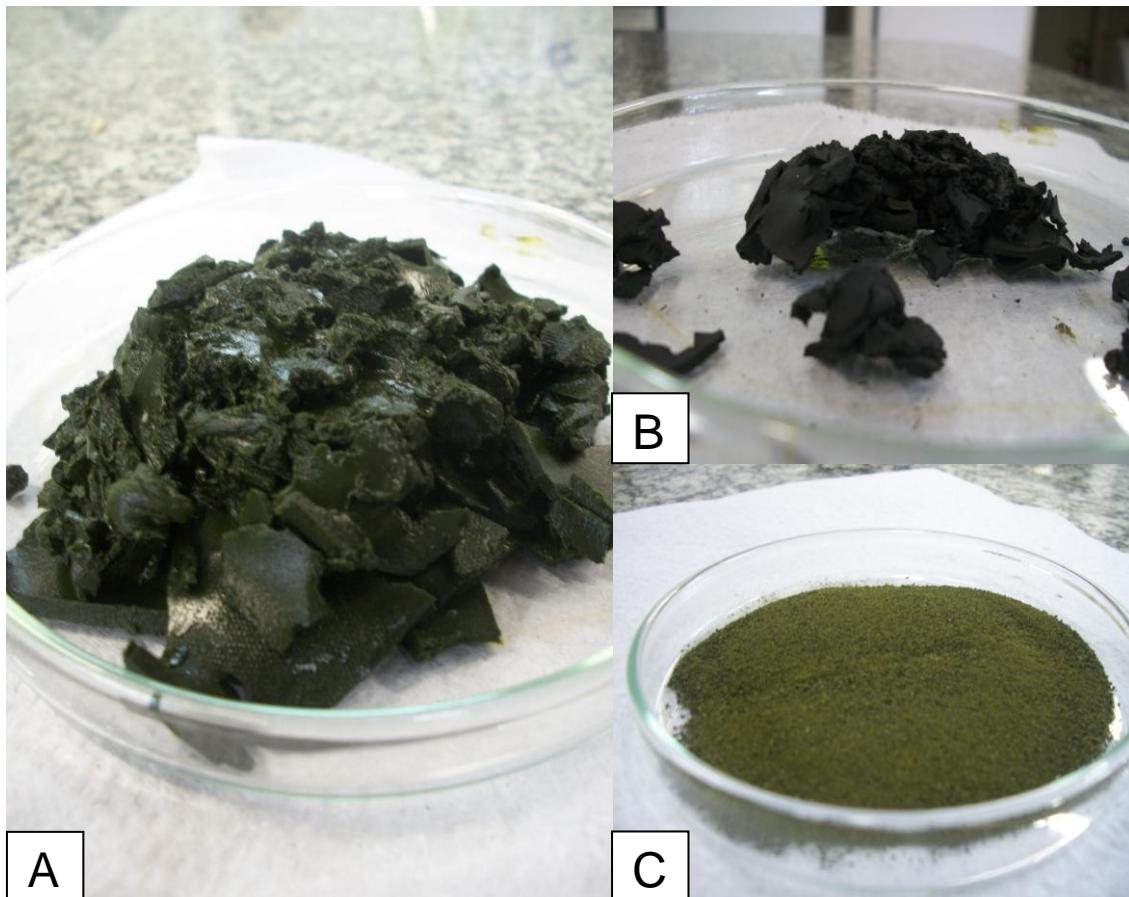


FIGURA 19 – ASPECTO BIOMASSA RECUPERADA. (A) BIOMASSA ÚMIDA; (B) BIOMASSA SECA; (C) BIOMASSA SECA E MACERADA.

FONTE: A autora

A dosagem de lipídeos foi realizada por extração com solvente a frio desenvolvida por Bligh e Dyer (1959) e adaptada por Soares (2010). Essa metodologia utilizou como solventes uma solução de metanol e clorofórmio e foi realizada em triplicata.

Primeiramente pesou-se 50 mg de biomassa seca e macerada em um tubo de polipropileno de 15 mL (tubo 1). A esse tubo adicionou-se 3 mL da solução de clorofórmio:metanol (2:1, v:v) e 10 µL de solução de butilhidroxitolueno (BHT) 1% em metanol (antioxidante). Em seguida, as amostras foram submetidas à 3 ciclos de sonicação de 15 minutos cada em banho de ultrassom (Unica Ultra Cleanner 1400, frequência de 40 kHz). Ao final dos ciclos as amostras foram incubadas a 4 °C por 24 horas para favorecer a extração de lipídeos. Os tubos foram envoltos em papel alumínio para impedir a fotodegradação do material.

Após o período de incubação, novamente realizou-se 3 ciclos de sonicação e em seguida as amostras foram submetidas a centrifugação a 5000 rpm, por 20 minutos e 5 °C. O sobrenadante foi recuperado e reservado em outro tubo (tubo 2). Adicionou-se 1,5 mL da solução de clorofórmio: metanol à biomassa restante no tubo 1 e essa solução foi novamente centrifugada nas mesmas condições da etapa anterior. O sobrenadante foi novamente recuperado e adicionado ao tubo 2.

Ao tubo 2, adicionou-se 2 mL de água destilada e 1 mL de clorofórmio. As amostras foram agitadas e centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos a 5 °C. Nessa etapa, a fase inferior foi recuperada e transferida a um *vial* com capacidade de aproximadamente 5 mL com massa aferida. Ao tubo 2 adicionou-se 1 mL de clorofórmio e repetiu-se a centrifugação, recuperação e transferência da fase inferior ao *vial*.

Esse *vial* com a porção lipídica foi levado a uma capela de exaustão para completa evaporação dos solventes e posteriormente sua massa foi aferida para que o cálculo gravimétrico fosse realizado obtendo a mensuração dos lipídeos totais.

$$\text{Lipídeos totais (mg.L}^{-1}\text{)} = \frac{(V_2 - V_1) \cdot B}{C} \cdot 1000 \quad (5)$$

Onde:

V1 = massa do vial vazio (g)

V2 = massa do vial com lipídeos (g)

B = biomassa seca do cultivo (g.L⁻¹)

C = biomassa seca

5.6 ANÁLISE DE BIOMERREDIAÇÃO DO ESGOTO

Para a caracterização do esgoto sanitário e avaliação da biorremediação foi realizada análise de nutrientes em três etapas. Primeiramente foi realizada a coleta do esgoto antes da biodigestão, essa

coleta deu-se de duas maneiras, esgoto diluído (coletado diretamente do cano de coleta da rede juntamente com a água da rede) e esgoto bruto (esgoto que decanta e é carregado por bombas ao biodigestor).

A segunda parte dessas análises consistiu na coleta e caracterização do esgoto biodigerido e armazenado nas bombonas. E para avaliar a biorremediação promovida pelas microalgas foi realizada a separação da biomassa e análise da água sobressaliente.

Em todas essas etapas foram dosados os teores de fósforo, ferro dissolvido, DBO, DQO, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal e sólidos suspensos totais. Tais dosagens foram realizadas pelo Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA) localizado na Universidade Federal do Paraná.

5.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS

Os gráficos foram construídos utilizando barras de erros que equivalem a duas vezes o desvio padrão sobre as médias das triplicatas. O desvio padrão foi multiplicado por 2 para abranger 95% de confiabilidade das amostras considerando uma distribuição normal (MOORE, 2000).

Para verificar diferenças entre os tratamentos nas variáveis biomassa e número de células foi utilizada uma regressão não linear com ajuste logístico dado pela seguinte função (FOX e WEISBERG, 2011).

$$f(x) = \frac{\beta_1}{1 + \exp^{\frac{\beta_2 - x}{\beta_3}}} \quad (6)$$

Onde:

β_1 = é a assíntota superior

β_2 = é o dia onde a resposta corresponde a metade da assíntota superior

β_3 = é a velocidade de crescimento da curva

Para isso foram ajustados dois modelos um simples (onde os betas são iguais para todos os tratamentos) e um complexo (onde os betas variam para todos os tratamentos). Depois foi realizada uma comparação entre os dois modelos, quando não foi verificada diferença entre esses dois modelos concluiu-se que não há diferença estatística entre os tratamentos. Quando a comparação apresentou diferença foram testados modelos intermediários (onde todas as opções de variabilidade entre os betas da equação são realizados) e esses foram testados para verificação da existência ou não de diferença.

No modelo geral com dados da escala laboratorial foi desconsiderado o tratamento com 25% de esgoto, pois seu comportamento foi extremamente discrepante comparado ao demais. O comportamento geral do cultivo (da curva de crescimento) no tratamento de 25% era muito diferente comparado aos demais. Nesse caso, dois modelos não foram suficientes para avaliar se havia diferença estatística, então além do modelo geral foram ajustados mais sete modelos, onde se permitia a variação de um dos betas (novamente desconsiderando o tratamento 25%). A TABELA 08 apresenta os betas fixos e variáveis em cada modelo.

TABELA 08 – MODELOS AJUSTADOS PARA OS DADOS EM
ESCALA LABORATORIAL

MODELO	BETAS
Modelo 1 (Geral)	β_1, β_2 e β_3 fixos
Modelo 2	β_1 varia; β_2 e β_3 fixos
Modelo 3	β_2 varia; β_1 e β_3 fixos
Modelo 4	β_3 varia; β_1 e β_2 fixos
Modelo 5	β_1 fixo; β_2 e β_3 variam
Modelo 6	β_2 fixo; β_1 e β_3 variam
Modelo 7	β_3 fixo; β_1 e β_2 variam
Modelo 8	β_1, β_2 e β_3 variam

FONTE: A autora

Para analisar a diferença estatística na variável biomassa, apenas nos dados da escala laboratorial, foi utilizado um modelo de regressão linear. Também foi desconsiderado o tratamento 25%.

Para validação dos modelos foi realizado análise dos resíduos, onde avaliou-se que os pressupostos assumidos pelos modelos (normalidade e homocedasticidade dos resíduos) são válidos. Para isso utilizou-se uma análise gráfica chamada quantil-quantil onde são comparados os quantis amostrais com os quantis teóricos de uma distribuição normal. Nesse gráfico, quanto mais próximo de uma reta for o resultado, melhor o ajuste dos resíduos a distribuição normal. Para a construção dos gráficos foram utilizados os desvios de Pearson, que são padronizados.

Diferente das variáveis já citadas, a variável lipídeo foi analisada por um método não paramétrico chamado Kruskal-Wallis (HOLLANDER e WOLFE, 1973) onde não se utiliza pressupostos permitindo utilizar os dados sem qualquer transformação. Com esse teste, pode-se dizer que pelo menos dois tratamentos diferem entre si, mas para determinar quais diferem é necessário realizar um teste de comparação múltipla (pós Kruskal-Wallis).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DETERMINAÇÃO DA MELHOR DILUIÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO

O experimento laboratorial foi realizado em três diferentes diluições como dito anteriormente. Esse experimento foi conduzido por 21 dias a fim de observar se a microalga do gênero *Scenedesmus* iria se adaptar e crescer nesse efluente. Além disso, o objetivo do cultivo foi verificar qual das diluições seria a melhor condição em laboratório.

Durante os 21 dias foram realizadas análises diárias de contagem celular, biomassa seca e pH. Tal cultivo iniciou-se com uma concentração celular de $202 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$. Os resultados da densidade celular podem ser observados na FIGURA 20, sendo o melhor resultado obtido em 25% com concentração final de $1573 \pm 12 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$. Enquanto o controle (CHU) atingiu uma densidade celular de $1480 \pm 160 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$, 10% obteve $1404 \pm 37 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ e o 15% $1014 \pm 78 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$. Ambos os resultados são semelhantes quanto ao número de células ao final do cultivo, principalmente levando em conta os desvio das amostras. Com essa semelhança entre todos os cultivos, há uma evidência que o esgoto sanitário pode ser um meio substituto para o meio CHU.

Baseado somente na densidade celular pôde-se observar que a microalga cresceu em esgoto sanitário tanto quanto no meio controle, tornando possível a substituição do meio sintético pelo efluente em questão. Vendrúsculo (2009) também obteve valores de número de células superiores ao CHU trabalhando com resíduos biodigeridos de aves e suínos. Nesse trabalho foi utilizada a microalga *Scenedesmus quadricauda*. A principal diferença é que os meios com dejeto foram preparados em duas etapas, primeiramente foi preparada uma solução de 40 g.L^{-1} que foi posteriormente diluída em 13 litros de água e autoclavada. Além disso, o cultivo foi realizado com volume de 200 mL e temperatura de 24°C. Os valores máximos de densidade celular foram, $103 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ com o meio CHU; $106 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$

para o meio com efluente suíno; e $133 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ para o meio com efluente de aves. Esse cultivo foi conduzido por 14 dias e os valores apresentados são inferiores aos obtidos no presente estudo.

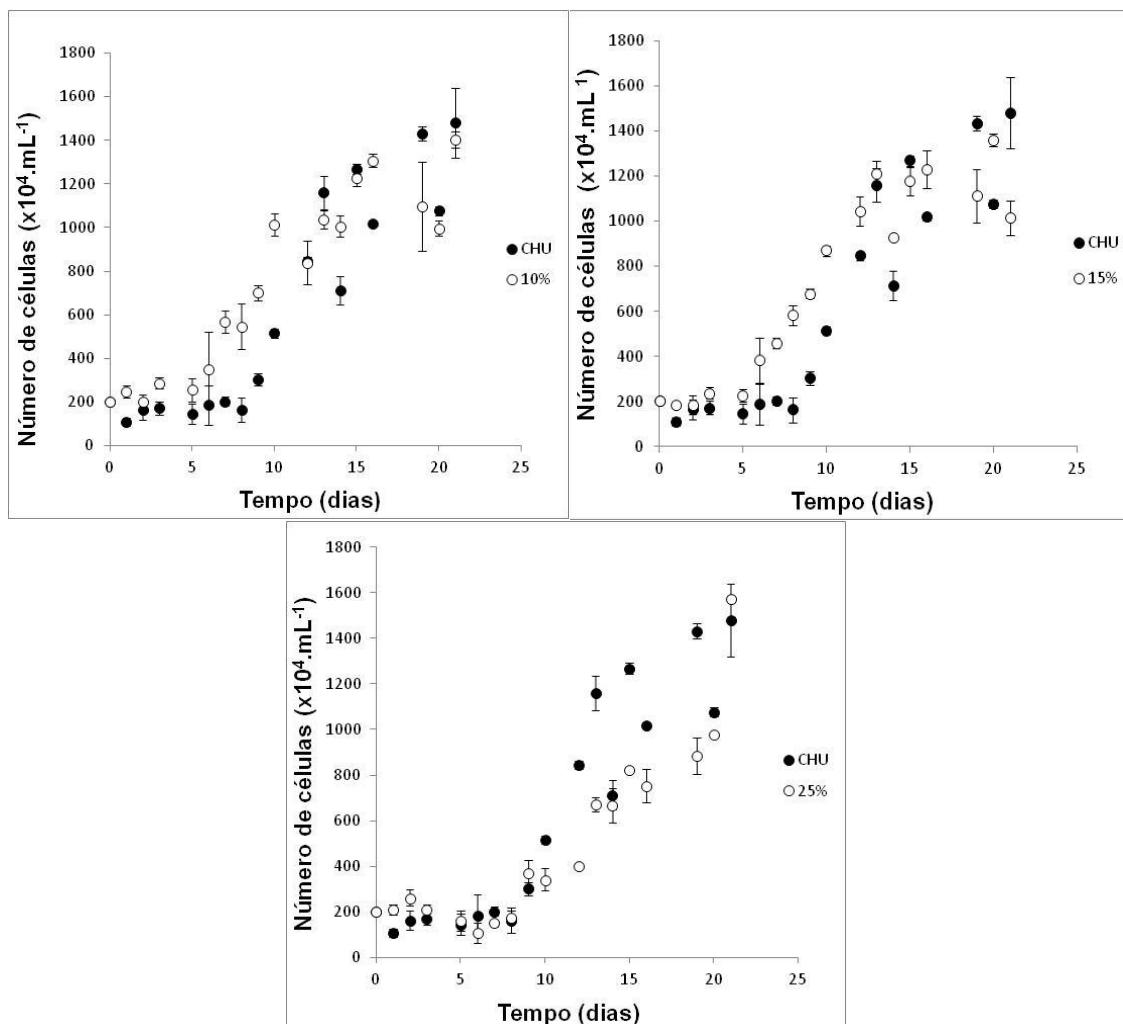


FIGURA 20 – DENSIDADE CELULAR DOS TRATAMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL COMPARADOS COM O CONTROLE

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado sem fotoperíodo (24 h de luz), 22 °C, aeração de $2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ em reator tipo Erlenmeyer de 2 L (1,8 L de volume útil), pH variou de 6-10.

Além dos dados de densidade celular, os dados de biomassa seca também foram obtidos em escala laboratorial e estão apresentados na FIGURA 21.

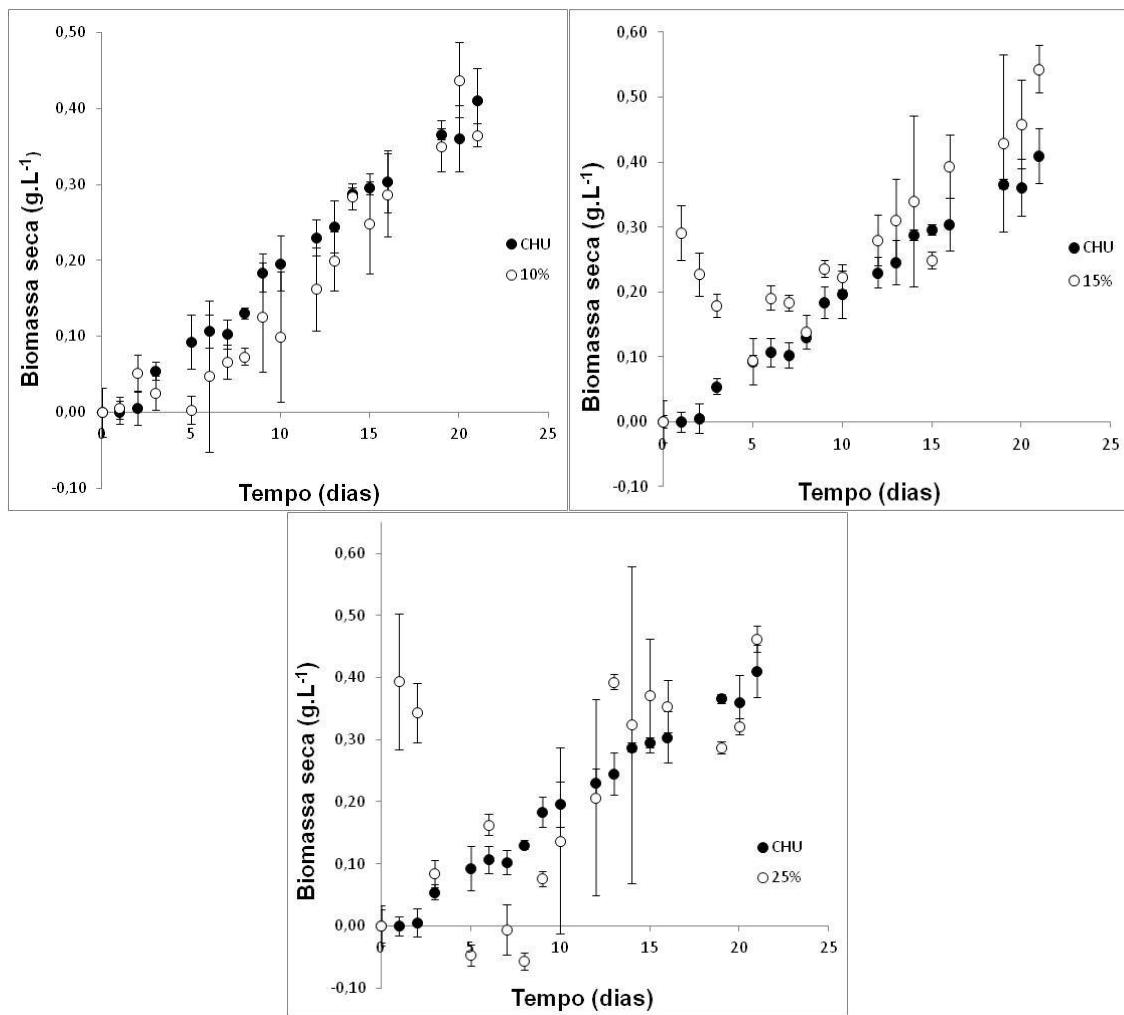


FIGURA 21 – BIOMASSA SECA DOS TRATAMENTOS EM ESCALA LABORATORIAL

COMPARADOS COM O CONTROLE

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado sem fotoperíodo (24 h de luz), 22 °C, aeração de 2 L.min⁻¹ em reator tipo Erlenmeyer de 2 L (1,8 L de volume útil), pH variou de 6-10.

Na análise de biomassa seca, mesmo realizando uma correção teórica da biomassa presente no resíduo (Δ), pode-se observar que nas concentrações 15% e 25% há um decréscimo de biomassa nos primeiros dias e depois essa cresce linearmente. Esse decréscimo ocorre, pois ao crescerem, as microalgas consomem o material orgânico presente no esgoto sanitário e promovem a redução de biomassa do efluente. Além disso, em maiores concentrações de esgoto sanitário há maior turbidez, maior concentração de material sólido suspenso e essa concentração elevada dificulta a análise gravimétrica. Isso

explica as barras de erros observadas na FIGURA 21, sendo assim, quanto maior a concentração maior o erro. Pode-se observar também que o dia onde as barras de erros mostram-se maiores, coincide com o dia em que iniciou-se o crescimento das microalgas após o período inicial de adaptação, por volta do 10º dia de cultivo.

Outra limitação ao utilizar tais diluições é o fato de as microalgas possuírem maior dificuldade de adaptação em concentrações elevadas de esgoto. Esse material possui além dos nutrientes, muitos compostos não analisados nesse estudo, mas que podem influenciar no crescimento das microalgas como, por exemplo, materiais utilizados na limpeza.

No final do cultivo, obteve-se concentrações de $0,410 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$ para o controle; $0,365 \pm 0,01 \text{ g.L}^{-1}$ para 10%; $0,544 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$ na diluição 15% e por último $0,463 \pm 0,02 \text{ g.L}^{-1}$ para o 25%. Assim como observado na densidade celular, os resultados de biomassa seca apontam o esgoto sanitário como um potencial substituto ao meio sintético CHU. O cultivo com 15% de esgoto apresentou crescimento de biomassa 33% superior ao controle e o cultivo com 25% de esgoto 13% superior ao controle.

Os valores de biomassa seca ao 21º dia estão próximos dos valores obtidos por Oliveira (2013b) em experimentos realizados também no NPDEAS em escala laboratorial. Nesse estudo, a autora trabalhou com volume útil de meio de 1,8L, temperatura de $22^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12h. Ao 10º dia de cultivo com meio CHU como controle a autora obteve Δ biomassa seca de $0,51 \text{ g.L}^{-1}$ e com o meio alternativo com 20% de efluente de bovinocultura biodigerido, $0,56 \text{ g.L}^{-1}$.

6.1.1 Tratamento estatístico dos dados obtidos em escala laboratorial

Para realização do tratamento estatístico dos dados em escala laboratorial foram necessários oito modelos, conforme descrito na Seção 5.7 e na TABELA 08. Ao comparar os modelos 8, 7 e 5 concluiu-se que não há diferença entre eles, porém ao comparar os modelos 8 e 6 observou-se que

existe diferença entre esses dois. Esses dois últimos diferem quanto β_2 (o dia onde a resposta corresponde à metade da assíntota superior), dessa forma há evidência que este parâmetro precisa variar.

Para dar continuidade a análise, foram comparados modelos em que β_2 e mais um parâmetro variam com o modelo em que só β_2 varia. Com essa comparação pôde-se concluir que β_1 e β_3 não precisam variar, apenas β_2 . Assim o modelo escolhido para explicar o comportamento do crescimento celular em escala laboratorial é o modelo 3, cujos coeficientes estão apresentados na TABELA 09.

TABELA 09 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO 3

	ESTIMATIVA	DESVIO	ESTATÍSTICA T	P VALOR
β_1	1265,99	52,20	24,23	< 0,001
$\beta_{2.1}$ (controle)	10,74	0,60	17,73	< 0,001
$\beta_{2.2}$ (10%)	8,08	0,59	13,51	< 0,001
$\beta_{2.2}$ (15%)	8,21	0,59	13,73	< 0,001
β_3	2,90	0,35	8,14	< 0,001

FONTE: A autora

Com o modelo 3 pôde-se construir três gráficos, explicando o crescimento celular do controle (FIGURA 22), do cultivo com 10% de esgoto (FIGURA 23) e com 15% de esgoto (FIGURA 24).

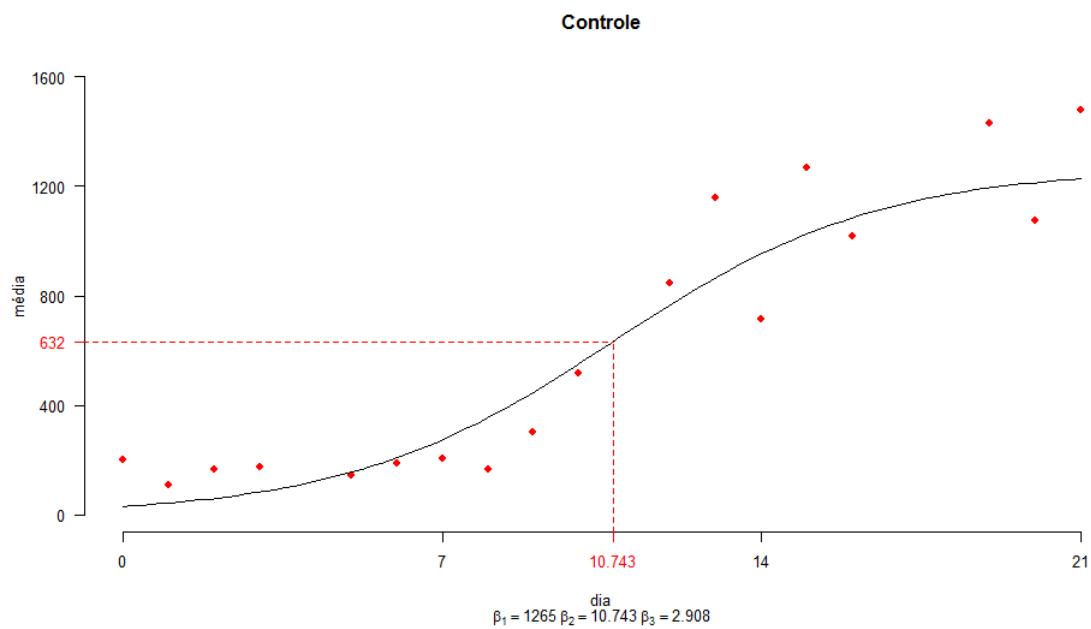


FIGURA 22 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CONTROLE (CHU) EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

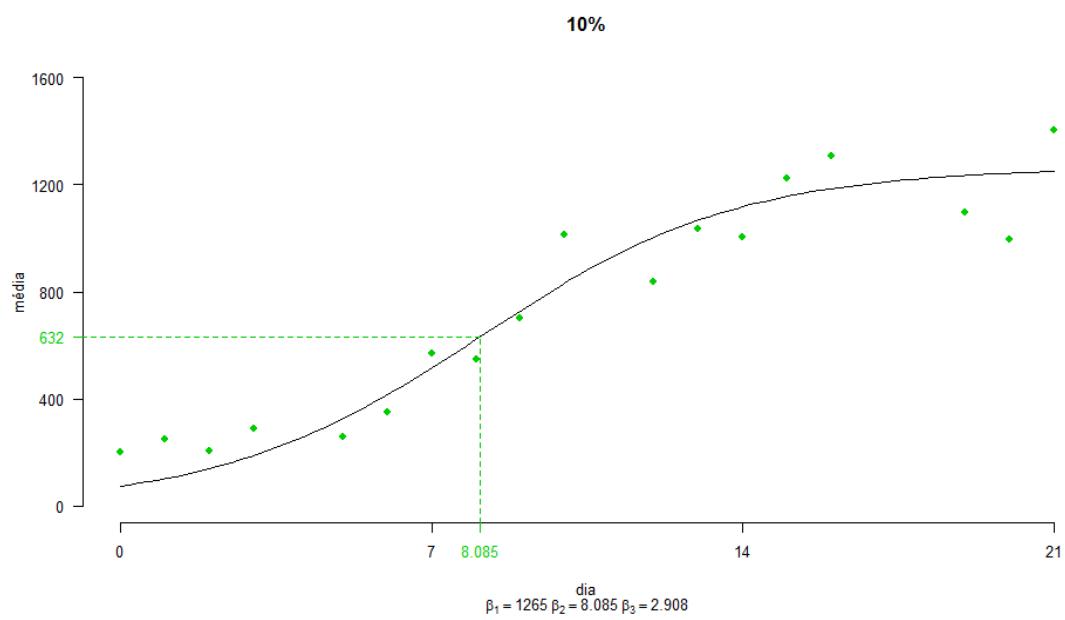


FIGURA 23 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CULTIVO COM 10% DE ESGOTO EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

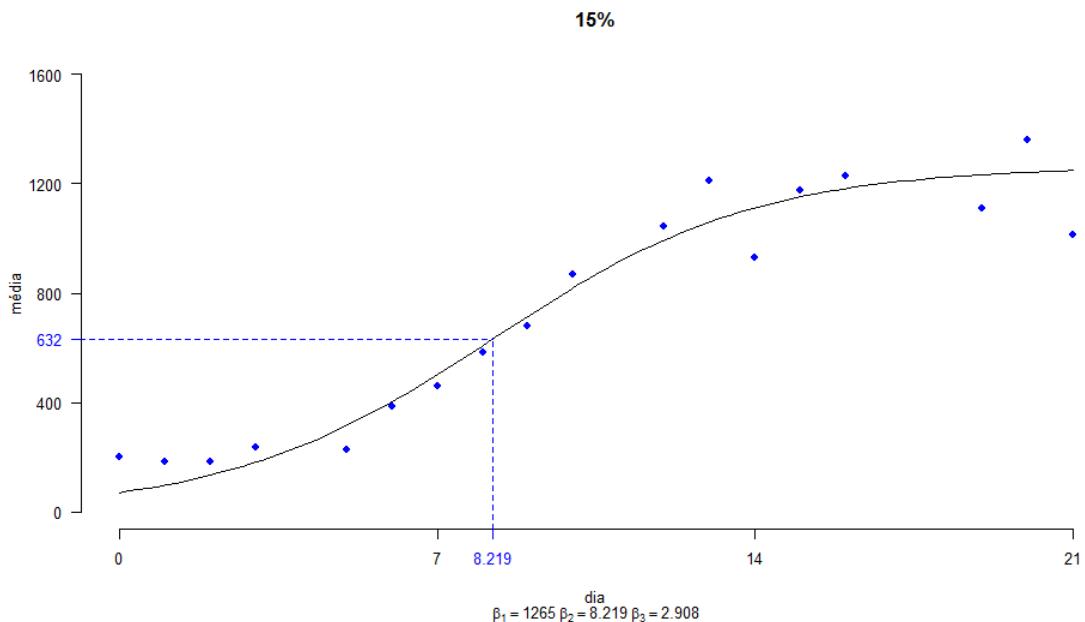


FIGURA 24 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO PARA OS DADOS DE CRESCIMENTO CELULAR DO CULTIVO COM 15% DE ESGOTO EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

Observando os valores das estimativas dos β s e os gráficos pode-se concluir que não existe diferença significativa entre a taxa de crescimento e a assíntota superior entre o controle e os cultivos com 10% e 15% de esgoto. Porém, conclui-se que há diferença entre o dia em que o número de células atinge a metade do seu crescimento máximo (β_2). O cultivo controle chega a metade do seu crescimento máximo aproximadamente no 10º dia de cultivo. Enquanto os tratamentos 10% e 15% atingem o mesmo nível ao 8º dia de cultivo.

Para verificação da normalidade dos dados foi realizada a análise gráfica quantil-quantil que pode ser observada na FIGURA 25.

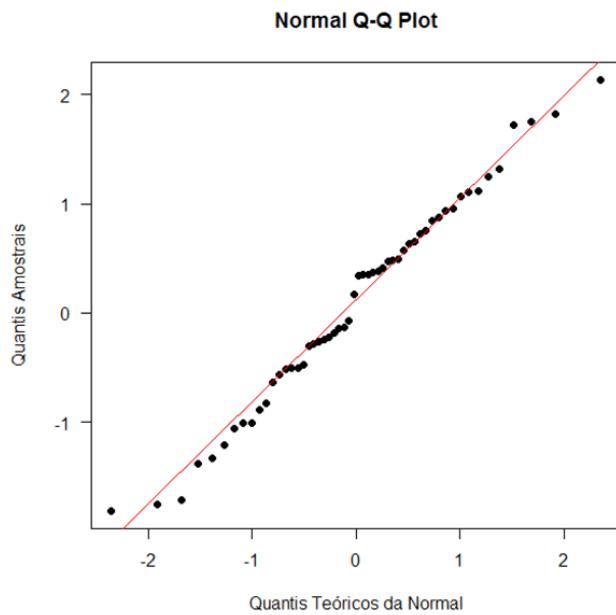


FIGURA 25 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA CRESCIMENTO CELULAR EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

Além do tratamento estatístico do crescimento celular, foi realizada a análise da variável biomassa em escala laboratorial. Assim como o número de células o tratamento 25% foi desconsiderado nos modelos, pois o comportamento geral do cultivo era muito diferente comparado aos demais tratamentos. Porém, no caso da biomassa foi ajustado um modelo linear com dois parâmetros: um controlando o efeito do dia e outro o do tratamento. As estimativas dos parâmetros são observadas na TABELA 10 e o gráfico pode ser observado na FIGURA 26.

TABELA 10 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO LINEAR EXPLICANDO O COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA EM ESCALA LABORATORIAL

	ESTIMATIVA	DESVIO	ESTATÍSTICA T	P VALOR
Intercepto	0,1146	0,015	7,19	< 0,001
β_1 (dia)	0,0191	0,001	18,00	< 0,001
β_2 ($t_{10\%}$)	0,2520	0,016	15,08	< 0,001
β_3 ($t_{15\%}$)	0,2420	0,016	14,48	< 0,001

FONTE: A autora

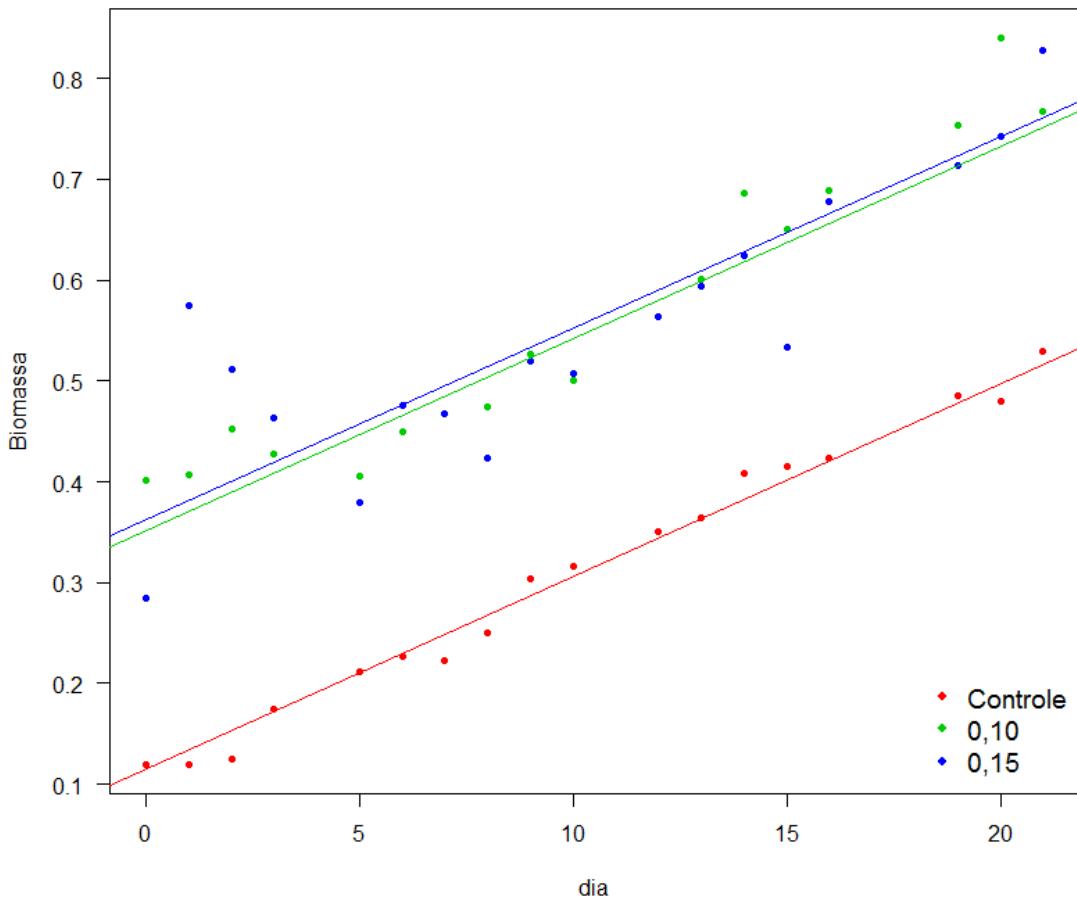


FIGURA 26 – AJUSTE LOGÍSTICO DE REGRESSÃO LINEAR PARA VARIÁVEL BIOMASSA

EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

Com base nos dados do ajuste, verificou-se que os tratamentos não diferem quanto a taxa de crescimento de biomassa, sendo esse valor de aproximadamente $0,02 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$. Também se concluiu que não há diferença entre o aumento de biomassa nos cultivos com 10% e 15% de esgoto sanitário.

Para a verificação da normalidade dos dados foi aplicada a análise gráfica de quantil-quantil como observado na FIGURA 27.

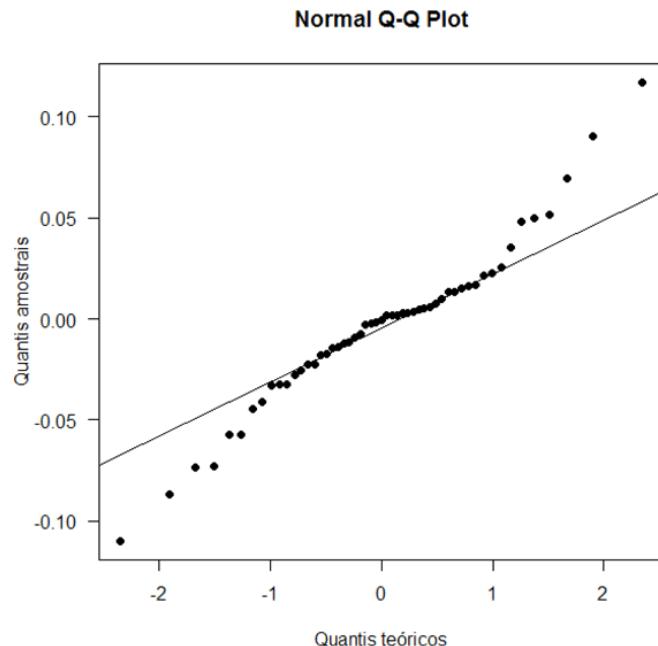


FIGURA 27 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL BIOMASSA EM ESCALA LABORATORIAL

FONTE: A autora

6.1.2 Escolha da concentração para aumento de escala

Mesmo com o cultivo de 25% não ter apresentado comportamento semelhante aos demais para ser aplicado o modelo estatístico adotado, observou-se que há crescimento de microalga nessa concentração. Esse comportamento muito discrepante pode ocorrer devido à alta concentração de nutrientes (nitrogênio e fósforo) presentes nessa diluição de 25%. Além disso, tratando-se de uma concentração maior, há também uma maior turbidez do meio, o que dificulta a difusão da luz em laboratório o que por sua vez dificulta o crescimento celular. Esse é um desafio comum em cultivos realizados em lagoas e sistemas abertos.

Mesmo com essa dificuldade optou-se por trabalhar com essa diluição de 25%, e extrapolar ainda mais as concentrações, pois o reator *airlift* apresenta melhor eficiência de troca gasosa. Quando o experimento é conduzido em escala laboratorial existem diversas limitações principalmente

em concentrações maiores. Meios de cultivo mais concentrados dificultam a incidência de luz e troca de gases é menos eficiente se comparado a reatores maiores. Esses aspectos limitam o crescimento das microalgas em maiores concentrações. O reator *airlift* apresenta uma coluna de água maior (2,7 m) quando comparada ao sistema de reator tipo Erlenmeyer utilizados no laboratório (0,14 m), isso permite melhor troca gasosa. Além disso, isso facilita a utilização de maiores concentrações de esgoto sanitário para o cultivo de microalgas. Além disso, o cultivo com a diluição de 25% apresentou maior densidade celular comparado aos demais cultivos, o que contribuiu para a escolha dessa diluição. Assim a FIGURA 28 mostra um fluxograma resumindo as atividades realizadas em escala laboratorial.

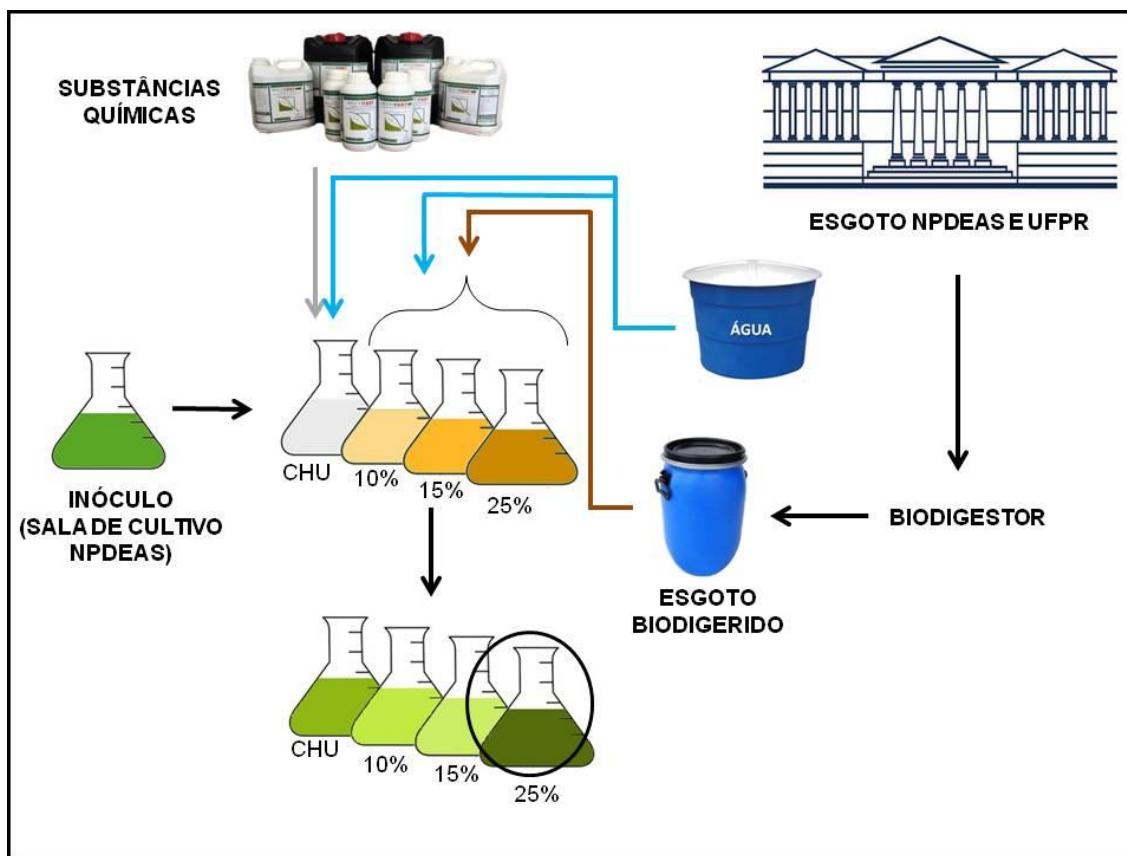


FIGURA 28 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS EM ESCALA LABORATORIAL
FONTE: A autora

6.2 CULTIVOS EM REATORES *AIRLIFT* COM AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE ESGOTO SANITÁRIO

Após o cultivo em escala laboratorial foram realizados cultivos em reatores tipo *airlift* com as concentrações de 25%, 35% e 45%. Após a inoculação desse cultivo, verificou-se que não houve crescimento satisfatório das microalgas. Tendo em vista que a carga orgânica do resíduo é alta, optou-se por realizar a aeração do esgoto por 15 dias, o que culminou na oxidação do mesmo. Após a oxidação ocorreu novamente a inoculação, mantendo as concentrações de esgoto. Esse experimento foi conduzido por 14 dias e assim como no laboratório, foram realizadas análises diárias de contagem celular, pH, e biomassa. A temperatura no período do cultivo variou entre -2 °C e 27 °C, e a insolação foi de até 10 horas diárias (INMET, 2013). O cultivo iniciou-se com uma concentração celular de aproximadamente $430 \pm 45 \times 10^4$ cel.mL⁻¹. Além disso, foram dosados os lipídeos totais ao final do cultivo.

Dentre as concentrações testadas, a de 35% de esgoto teve maior concentração celular final, alcançando $3061 \pm 668,10 \times 10^4$ cel.mL⁻¹. O controle com meio CHU e o 25% tiveram densidades celulares muito semelhantes, de $2737 \pm 205 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ e $2725 \pm 210 \times 10^4$ cel.mL⁻¹ respectivamente. Tais resultados são muito semelhantes entre si, corroborando com a possibilidade de utilizar o esgoto sanitário como meio alternativo para as microalgas. O cultivo com maior concentração de esgoto não obteve crescimento satisfatório alcançando no 14º dia somente $653 \pm 82 \times 10^4$ cel.mL⁻¹. Esses comportamentos podem ser observados na FIGURA 29.

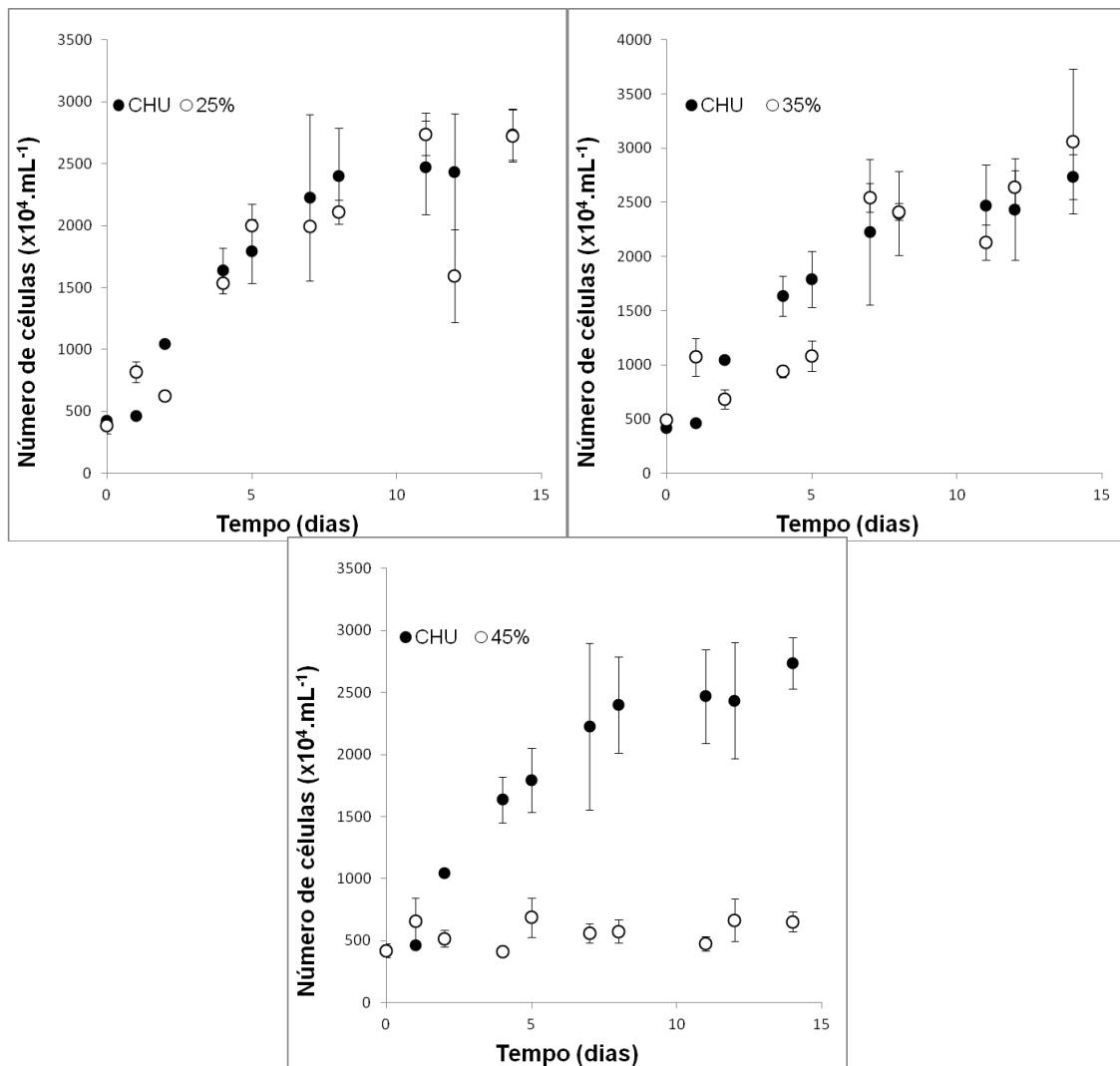


FIGURA 29 – NÚMERO DE CÉLULAS DOS TRATAMENTOS EM REATORES AIRLIFT COMPARADOS COM O CONTROLE (CHU)

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado exposto ao tempo, com temperatura variando entre -2 °C e 27 °C, insolação diária de até 10 horas, em reator tipo *airlift* de 12 L (11 L de volume útil), o pH variou entre 7-10.

As curvas de aumento de biomassa (Δ biomassa seca) podem ser observadas na FIGURA 30.

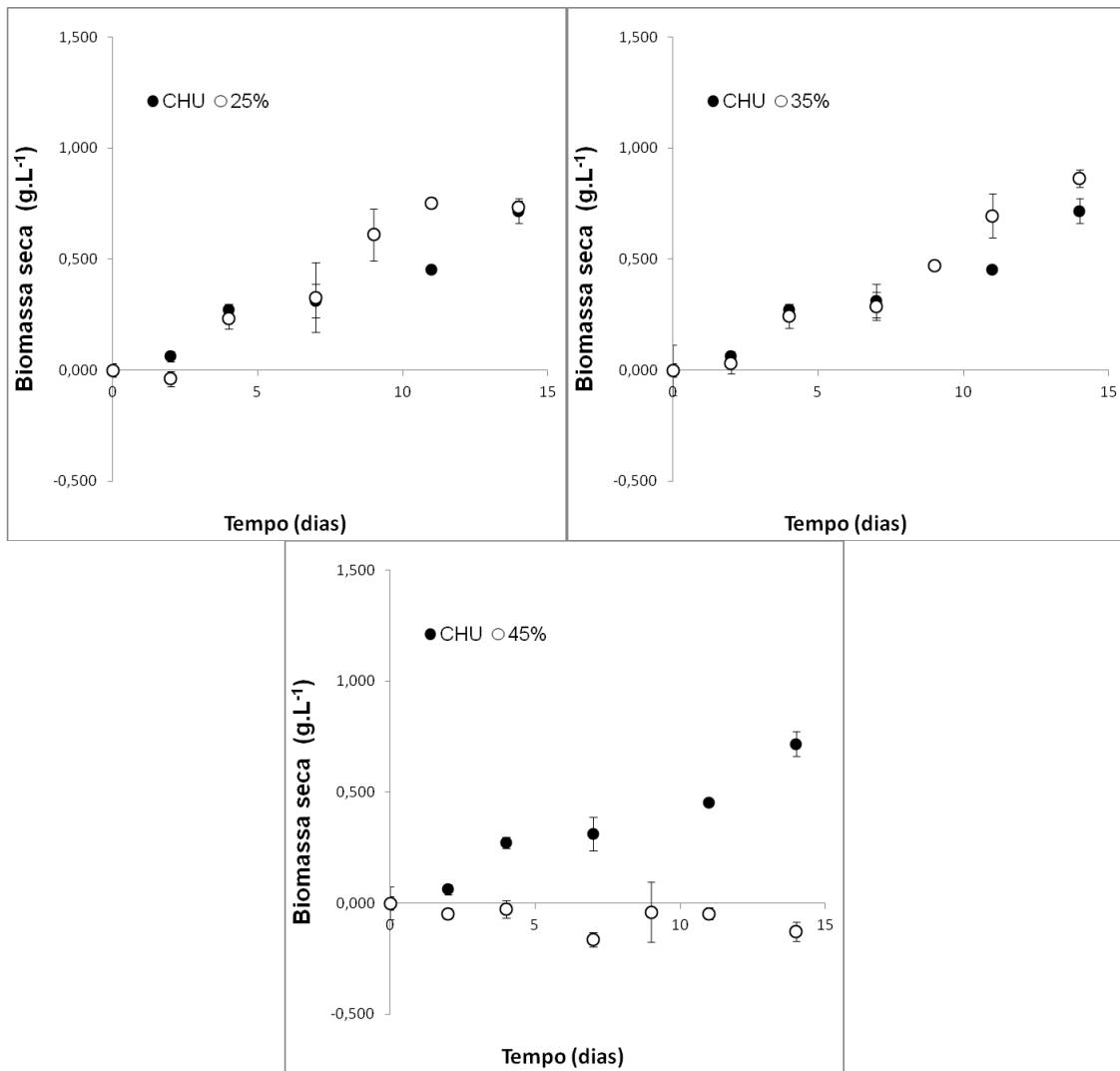


FIGURA 30 – ANÁLISE DE BIOMASSA SECA DOS CULTIVOS COM ESGOTO EM REATORES AIRLIFT COMPARADOS COM O CONTROLE (CHU)

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado exposto ao tempo, com temperatura variando entre -2 °C e 27 °C, insolação diária de até 10 horas, em reator tipo *airlift* de 12 L (11 L de volume útil), o pH variou entre 7-10.

Nesse experimento em reatores *airlift* observou-se que tanto na diluição de 25% quanto na de 35% os teores de biomassa seca atingidos foram muito semelhantes ao controle, enquanto o 45% apresentou teor bem inferior ao controle. Como dito na seção 5.4.2 optou-se por trabalhar com Δ biomassa para facilitar a análise do aumento desse parâmetro durante o cultivo tentando eliminar interferências do material presente no esgoto. Dessa forma, ao 14º dia o cultivo com CHU apresentou $0,717 \pm 0,12$ g.L⁻¹ de biomassa seca; o 25%

$0,733 \pm 0,03$ g.L $^{-1}$; o 35% $0,864 \pm 0,04$ g.L $^{-1}$. O 45% não apresentou aumento de biomassa, pelo contrário, ao final do cultivo tal diluição apresentou valor negativo de biomassa $-0,128 \pm 0,04$ g.L $^{-1}$. Mesmo sem crescimento da microalga, houve aeração constante o que causa a oxidação da matéria orgânica e redução de sólidos presentes. Como se trata de uma análise gravimétrica, os sólidos presentes no esgoto interferem nos resultados.

Como o objetivo desse estudo foi a produção de biomassa de microalgas para obtenção de óleo e posterior produção de biodiesel, foi analisado no último dia de cultivo a dosagem de lipídeos totais (FIGURA 31). O cultivo com CHU obteve o maior teor lipídico ($13\% \pm 6$), os cultivos com esgoto sanitário com concentração de 25%, 35% e 45% tiveram teores de $10\% \pm 1$; $7\% \pm 1$ e $9\% \pm 2$, respectivamente.

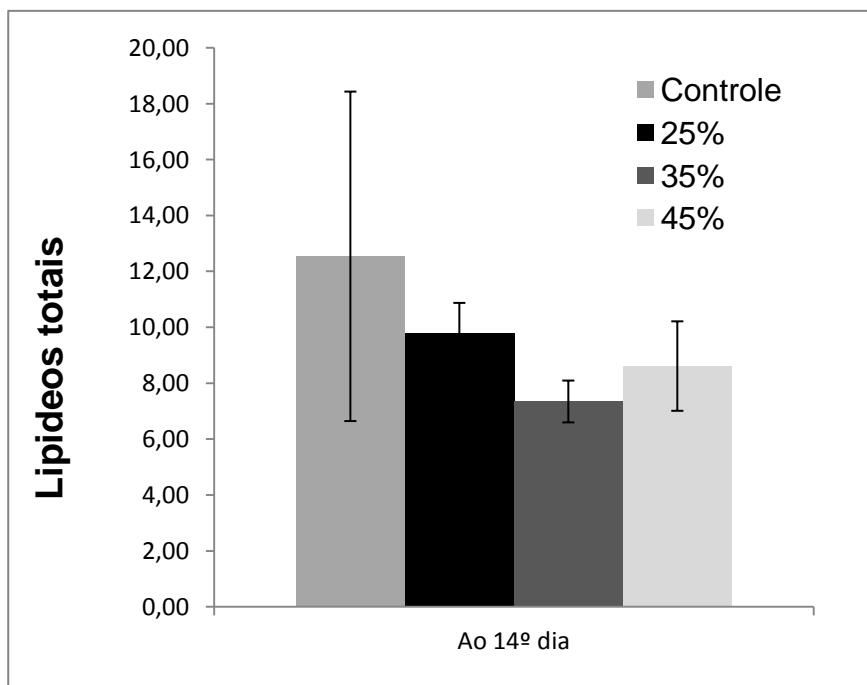


FIGURA 31 – DOSAGEM DE LIPÍDEOS TOTAIS NOS CULTIVOS COM ESGOTO E NO CONTROLE (CHU) EM REATORES AIRLIFT

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado exposto ao tempo, em triplicata, com temperatura variando entre -2 °C e 27 °C, insolação diária de até 10 horas, em reator tipo *airlift* de 12 L (11 L de volume útil), o pH variou entre 7-10.

É possível observar que o cultivo com o meio CHU obteve maior concentração de lipídeo comparado aos demais cultivos. Além disso, esses valores são inferiores a valores obtidos em experimento anteriores do grupo também em reator *airlift*. Taher (2013) realizou cultivo com meio CHU e meio alternativo a 10% de dejeto suíno biodigerido. Ao final de 15 dias o autor obteve concentração de 25% lipídeos totais para o CHU e 26% para o meio suíno. Mesmo com um menor período de tempo do que foi utilizado no presente estudo, o autor obteve valores superiores que podem ser explicados pelas curvas de crescimento.

A FIGURA 32 mostra uma curva típica de crescimento celular. Nessa figura está representada a fase lag (adaptação), a fase de crescimento exponencial seguida da fase linear, a fase estacionária (onde não há crescimento significativo) e a fase de morte celular (MATA, MARTINS E CAETANO, 2010). A fase estacionaria coincide com a fase em que não há mais nutrientes disponíveis, essa também é a fase onde há acumulo de biomassa e co-produtos como lipídeos.

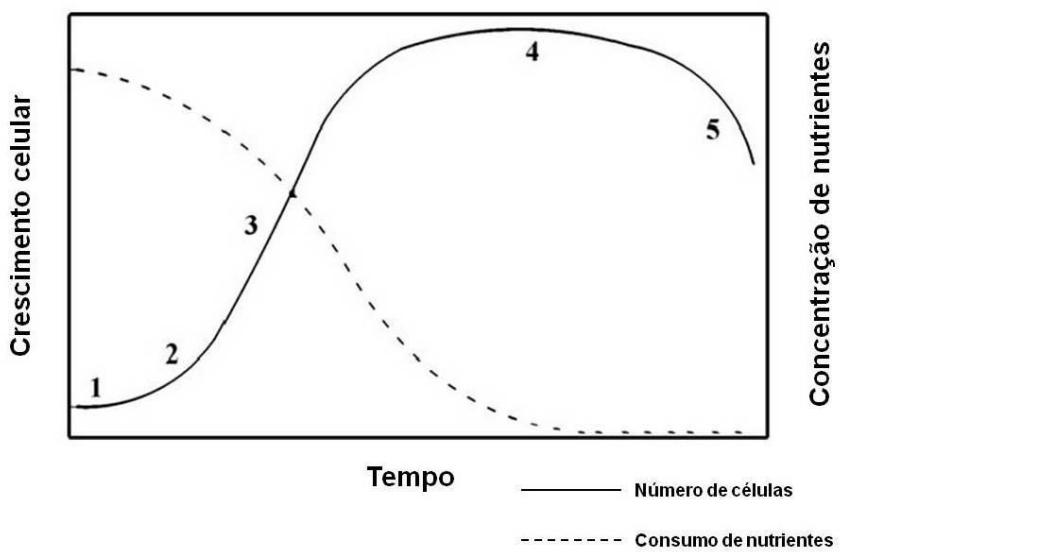


FIGURA 32 – CURVA TÍPICA DE CRESCIMENTO CELULAR. (1) FASE LAG, (2) FASE DE CRESCIMENTO EXPOENCIAL, (3) FASE DE CRESCIMENTO LINEAR, (4) FASE ESTACIONÁRIA, (5) FASE DE DECLÍNIO

FONTE: Adaptado de Mata, Martins e Caetano (2010)

No presente estudo, não foi possível observar essa fase estacionária (FIGURAS 20 e 29). Isso pode ser explicado pela dificuldade de adaptação de crescimento dessa espécie em esgoto sanitário. Tal dificuldade pode estar associada à presença de compostos químicos tóxicos a microalgas, uma vez que esse esgoto é complexo e possui resíduos de limpeza e outros produtos das atividades do NPDEAS e UFPR. O fato de as microalgas não atingirem a fase estacionária indica que ainda existe disponibilidade de nutrientes como o nitrogênio no meio. Uma alternativa para aumentar o teor lipídico nos cultivos com esgoto sanitário é conduzir o experimento por um período de tempo maior, permitindo que os nutrientes sejam consumidos por completo e a microalga possam acumular co-produtos.

Outra diferença entre os resultados obtidos por Taher (2013) e o presente estudo é que no período do cultivo, o autor observou que a temperatura média na região de Curitiba variou entre 20°C e 29°C. No presente estudo, a temperatura média variou entre -2°C e 27°C, essa alta amplitude térmica e a realização do cultivo em baixas temperaturas também culminaram para que o crescimento fosse inferior aos demais trabalhos do grupo, até mesmo com o cultivo controle (CHU).

6.2.1 Tratamento estatístico dos dados obtidos em escala não-laboratorial (reatores *airlift*)

Para verificar se houve diferença na variável número de células no experimento em reator *airlift* entre os tratamentos propostos foi utilizado um modelo de regressão não linear comparando dois modelos. Assim como na escala laboratorial, o cultivo com maior concentração não foi levado em conta, pois seu comportamento difere muito dos demais já que não foi observado crescimento na concentração 45%. No primeiro modelo, todos os tratamentos são explicados pela mesma curva e no outro cada tratamento é explicado por uma curva diferente. Comparando esses dois modelos foi possível concluir que não há diferença significativa ao nível de 0,05 de confiança entre os

Para a verificação da normalidade dos dados foi aplicada a análise gráfica de quantil-quantil como observado na FIGURA 34.

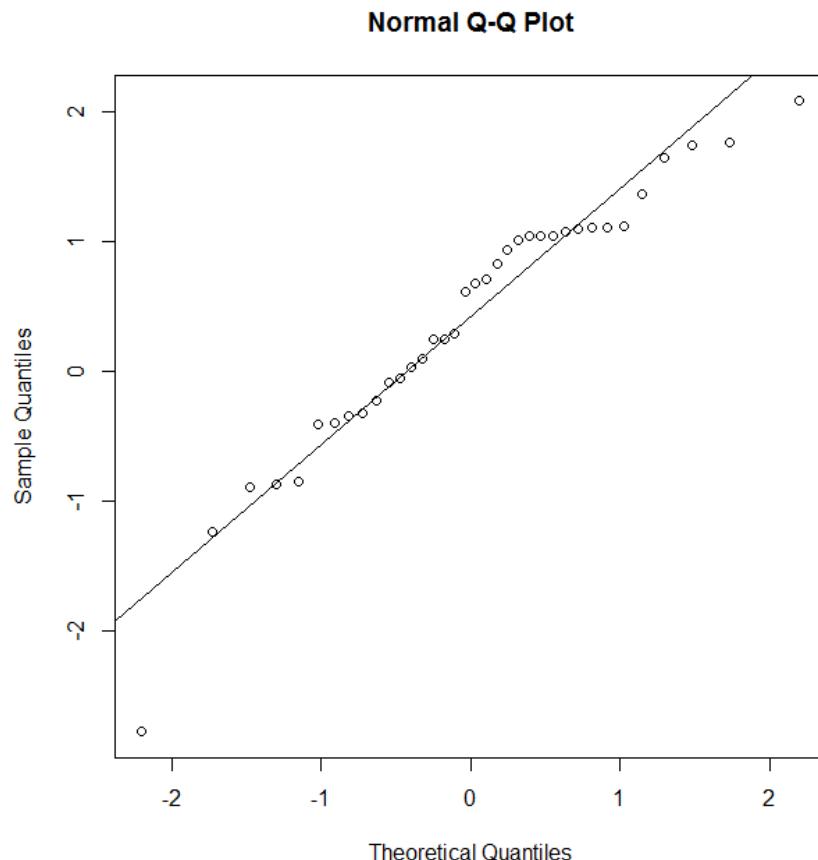


FIGURA 34 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL NÚMERO DE CÉLULAS EM REATOR AIRLIFT

FONTE: A autora

No ajuste para a variável biomassa a conclusão foi idêntica. Na análise de número de células também não foi levado em conta o cultivo com 45% de esgoto. Além disso, não houve diferença significativa e o aumento de biomassa em todos os cultivos em reatores *airlifts* é explicado pela mesma curva (FIGURA 35). As estimativas estão descritas na TABELA 12 e o gráfico quantil-quantil apresentado na (FIGURA 36).

TABELA 12 – ESTIMATIVA E TEST T PARA OS PARÂMETROS DO MODELO DE REGRESSÃO NÃO LINEAR EXPLICANDO O COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA SECA EM REATOR AIRLIFT

	ESTIMATIVA	DESVIO	ESTATÍSTICA T	P VALOR
β_1	0,85	0,12	7,07	< 0,001
β_2	8,17	1,20	6,76	< 0,001
β_3	2,72	0,67	4,05	< 0,001

FONTE: A autora

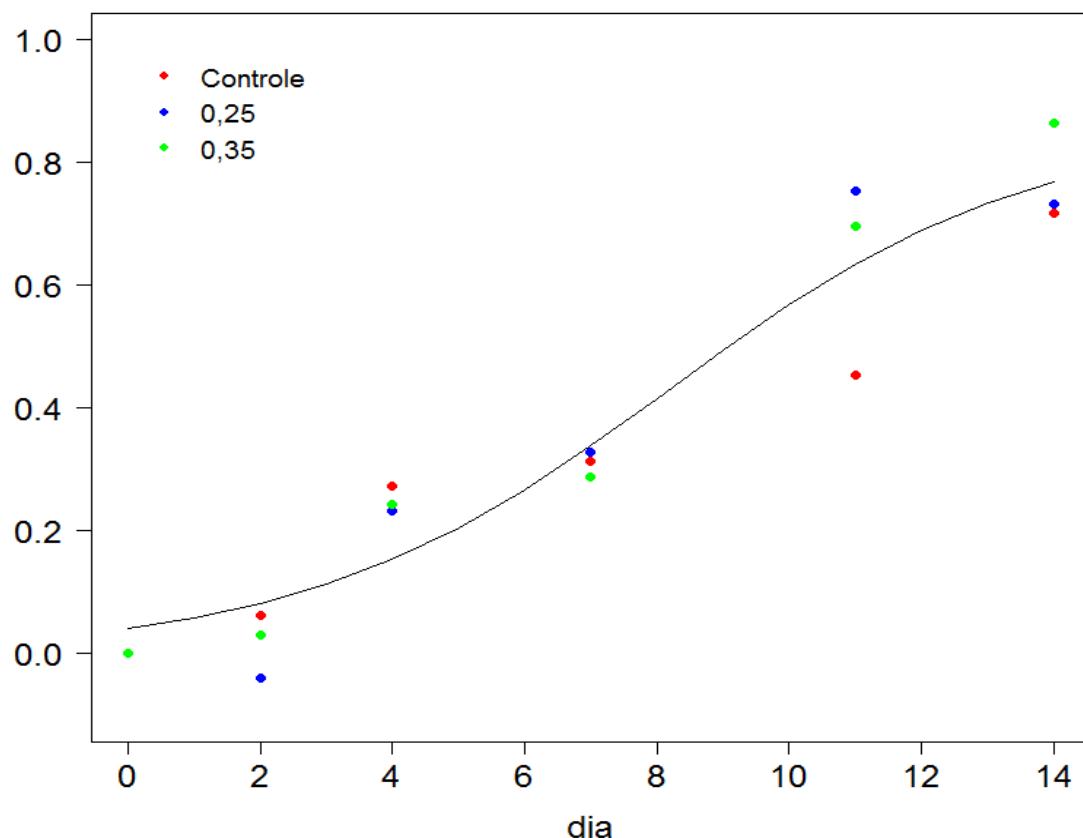


FIGURA 35 – CURVA DE AJUSTE LOGÍSTICO EXPLICANDO COMPORTAMENTO DA VARIÁVEL BIOMASSA SECA EM REATOR AIRLIFT

FONTE: A autora

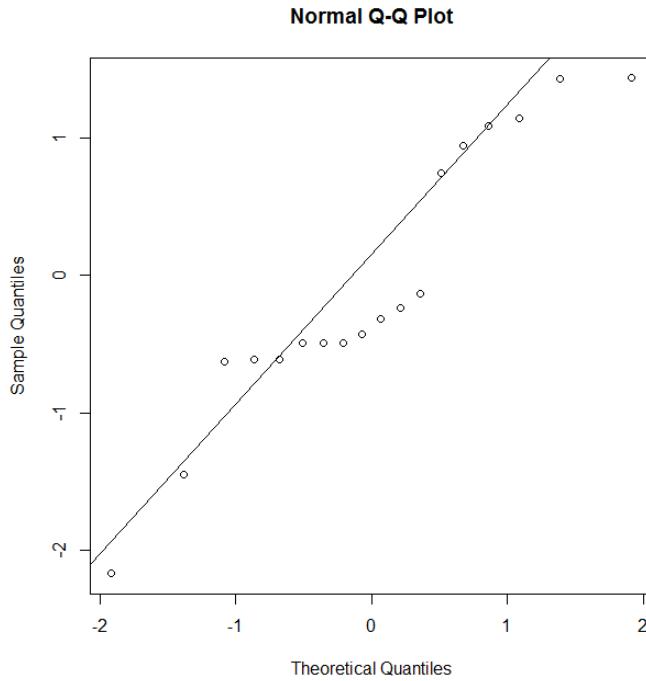


FIGURA 36 – GRÁFICO QUANTIL-QUANTIL PARA VARIÁVEL BIOMASSA EM REATOR AIRLIFT

FONTE: A autora

Para a verificação de diferença significativa na variável lipídeos totais foi realizado o método de Kruskal Wallis. Esse teste, num primeiro momento mostrou que pelo menos dois dos tratamentos possuíam diferença significativa entre si. Para saber com exatidão quais tratamentos apresentam tal diferença, realizou-se um método pós Kruskal-Wallis (TABELA 13) onde t1 é o controle (CHU), t2 é o cultivo com 25%, t3 é o cultivo com 35% e t4 com 45%.

TABELA 13 – COMPARAÇÃO MULTIPLA (PÓS KRUSKAL-WALLIS)

	DIFERENÇA OBSERVADA	DIFERENÇA CRÍTICA
t1-t2	2,66	7,76
t1-t3	8,66 ***	7,76
t1-t4	5,33	7,76
t2-t3	6	7,76
t2-t4	2,66	7,76
t3-t4	3,33	7,76

Nota: *** diferença significativa

FONTE: A autora

Baseado nos tratamentos estatísticos verificou-se que os cultivos com 25%, 35% e controle não apresentam diferença significativa entre si. Dessa forma, há evidências que o esgoto sanitário nessas concentrações apresenta potencial para substituir o meio CHU.

6.2.2 Determinação da melhor concentração de esgoto sanitário para o cultivo de microalgas

Como não houve diferença estatística entre o controle e o cultivo com 35%, e esse apresentou a maior concentração celular ao final do cultivo e o maior aumento de biomassa comparado ao controle CHU, considerou-se essa a melhor condição de cultivo. Mesmo com um teor lipídico do meio alternativo menor comparado ao controle, essa condição de 35% foi considerada a melhor pelo maior número de células ao final do cultivo. Dessa forma, foi realizado um novo cultivo com a mesma diluição a fim de avaliar o potencial de biorremediação do esgoto pelo crescimento da microalga. O cultivo com 45% não apresentou crescimento, indicando que há uma limitação da diluição, pois o excesso de matéria orgânica e a alta turbidez do meio com maior concentração limitam o crescimento da microalga. O cultivo com 25% apresentou concentrações celulares semelhantes ao 35% nos reatores *airlift*. Mas a diluição de 25% não foi escolhida como melhor condição, pois além da produção de microalga, o trabalho teve o intuito de tratar o esgoto sanitário. Dessa forma, quanto maior a concentração utilizada, mais esgoto pode ser tratado em um menor período de tempo. A FIGURA 37 mostra um esquema resumido das atividades realizadas nessa etapa do estudo.

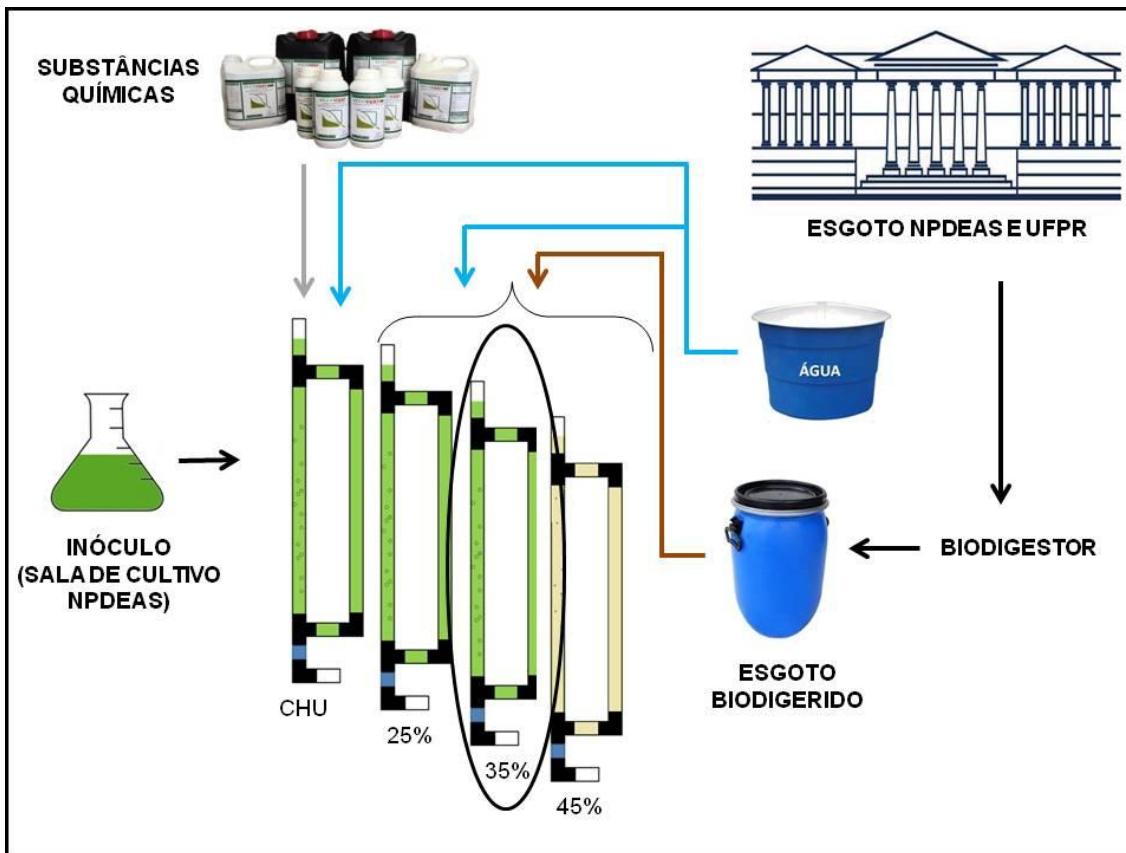


FIGURA 37 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS EM REATOR AIRLIFT PARA DETERMINAÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO

FONTE: A autora

6.3 CULTIVO EM REATOR AIRLIFT DA MELHOR CONDIÇÃO OBTIDA EM ESCALA NÃO-LABORATORIAL

Após selecionar a melhor condição de cultivo em reator *airlift*, um novo cultivo com a diluição de 35% de esgoto foi realizada para avaliar novamente o crescimento e também dosar os nutrientes ao final do cultivo com o objetivo de avaliar a biorremediação promovida pelas microalgas. Como verificado no experimento anterior, o esgoto foi aerado por 15 dias antes da inoculação. A temperatura durante a realização desse cultivo variou entre 7 °C e 27 °C, e a insolação diária foi de até 11 horas (INMET, 2013).

Esse último cultivo iniciou-se com concentração celular de $211 \pm 30,29 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ e foi conduzido por 18 dias. Os resultados das análises diárias estão apresentados na FIGURA 38.

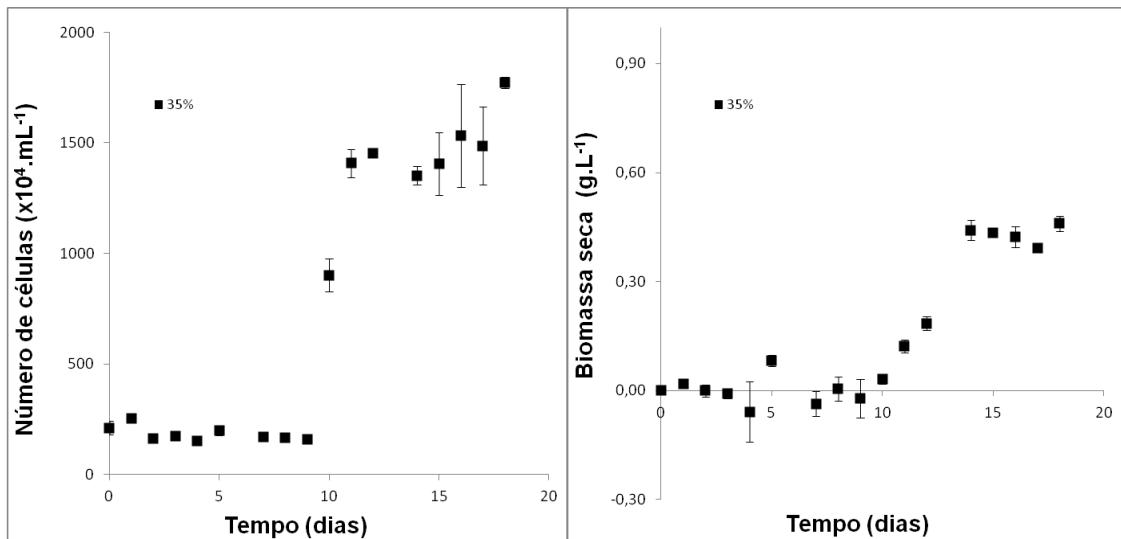


FIGURA 38 – ANÁLISES DE BIOMASSA SECA E NÚMERO DE CÉLULAS DA REPETIÇÃO DO CULTIVO COM 35% DE ESGOTO EM REATOR AIRLIFT

FONTE: A autora

Nota: as barras de erros representam duas vezes o desvio padrão. Experimento realizado exposto ao tempo, com temperatura variando entre 7 °C e 27 °C, insolação diária de até 11 horas, em reator tipo *airlift* de 12 L (11 L de volume útil), pH variou entre 7-11.

No último dia de cultivo obteve-se concentração celular de $1773 \pm 25 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ e aumento de biomassa seca de $0,46 \pm 0,02 \text{ g.L}^{-1}$. A dosagem de lipídeos totais também foi realizada nessa fase do estudo e não diferiu muito da obtida anteriormente, $8\% \pm 1$.

6.3.1 Remoção de nutrientes do esgoto sanitário pelo crescimento da microalga em reatores *airlift*

Para avaliar a biorremediação promovida pelas microalgas foi realizada análises de diversos nutrientes no esgoto sanitário. Além disso, tais análises foram realizadas antes da biodigestão em duas etapas, esgoto diluído, que é o

esgoto coletado diretamente da rede coletora de esgoto; e bruto, que é o esgoto concentrado que alimenta o biodigestor.

Dentre as análises realizadas estão: fósforo, ferro dissolvido, DBO, DQO, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal e sólidos suspensos totais. Na TABELA 14 estão descritos os valores desses nutrientes antes e depois da biodigestão.

Mesmo com a redução dos teores analisados pela biodigestão, alguns dos parâmetros impedem o lançamento desse resíduo em corpo hídrico receptor, fazendo necessário um tratamento antes do descarte. Por exemplo, segundo Resolução CONAMA nº 430 de 2011, para lançamentos de efluente o limite do parâmetro nitrogênio amoniacal é de 20 mg NH₃-N .L⁻¹. Ainda segundo essa resolução o limite para DBO₅, 20ºC é de 120 mg.L⁻¹.

TABELA 14 – TEORES DE DIVERSOS PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS NO ESGOTO SANITÁRIO

	ESGOTO DILUIDO (ANEXO 02)	ESGOTO BRUTO (ANEXO 03)	ESGOTO BODIGERIDO (ANEXO 04)
Fósforo (mg.L ⁻¹)	10,50	48,34	4,49
Ferro dissolvido (mg.L ⁻¹)	< 0,10	0,16	1,02
DBO (mg.L ⁻¹)	367,91	3.361,31	425,65
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	633,26	15.831,60	1.460,00
Nitrato (mg NO ₃ -N .L ⁻¹)	< 0,05	< 2,50	< 2,50
Nitrito (mg NO ₂ -N .L ⁻¹)	< 0,01	< 0,50	< 0,50
Nitrogênio amoniacal (mg NH ₃ -N .L ⁻¹)	112,34	245,73	425,47
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)	69,00	15.000,00	168,00

FONTE: A autora

Nota: esgoto diluído = é o esgoto coletado diretamente da rede coletora de esgoto; esgoto bruto = é o esgoto concentrado que alimenta o biodigestor; esgoto biodigerido = é o esgoto após a biodigestão

O esgoto diluído apresenta menores teores comparados ao esgoto bruto, pois esse esgoto foi coletado diretamente do encanamento e juntamente com ele há água de limpeza geral. Isso faz com que a concentração de matéria orgânica também esteja diluída. A TABELA 14 apresenta também a redução dos parâmetros após a biodigestão (esgoto biodigerido), o que era esperado uma vez que a biodigestão é uma etapa de tratamento que tem o propósito de remover a matéria orgânica pela atividade anaeróbia de diferentes micro-organismos.

Com isso, realizou-se o cultivo com a microalga do gênero *Scenedesmus* objetivando reduzir ainda mais os parâmetros físicos e químicos dosados. Na TABELA 15 estão apresentados os valores do efluente biodigerido e do efluente após o cultivo (esgoto tratado).

TABELA 15 – TEORES DE DIVERSOS PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS NO ESGOTO SANITÁRIO ANTES E DEPOIS DO CULTIVO COM MICROALGA

	ESGOTO BIODIGERIDO (ANEXO 04)	ESGOTO TRATADO (ANEXO 05)	REMOÇÃO (%)
Fósforo (mg.L ⁻¹)	4,49	4,37	3
Ferro dissolvido (mg.L ⁻¹)	1,02	4,74	-
DBO (mg.L ⁻¹)	425,65	204,31	52
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	1.460,00	931,26	36
Nitrato (mg NO ₃ -N .L ⁻¹)	< 2,50	< 0,14	-
Nitrito (mg NO ₂ -N .L ⁻¹)	< 0,50	< 0,03	-
Nitrogênio amoniacal (mg NH ₃ -N .L ⁻¹)	425,47	102,71	76
Sólidos suspensos totais (mg.L ⁻¹)	168,00	162,86	3

FONTE: A autora

Nota: esgoto biodigerido = é o esgoto após a biodigestão; esgoto tratado = é o esgoto após o cultivo e separação das microalgas.

Alva *et al.*, (2013) também avaliaram a remoção de alguns parâmetros pelo cultivo da microalga *Scenedesmus acutus*. Os autores realizaram o cultivo também em reatores Erlenmeyer de 2 L mas com volume útil de 1 L. Também foi mantida agitação constante e temperatura de 27 °C entretanto, diferente do presente estudo, os autores utilizaram fotoperíodo de 12 h. O cultivo iniciou-se com $350 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ e durou 18 dias. Com tais condições, eles obtiveram remoção de nitrogênio amoniacal de 92% e 48% de DQO. Tais resultados são ligeiramente superiores aos obtidos nesse estudo.

As reduções poderiam ser aumentadas se o cultivo fosse conduzido por mais tempo. Isso foi observado também na dosagem de lipídeos, como não foi observada a fase estacionária no crescimento celular, conclui-se que ainda há nutrientes disponíveis no meio. Além disso, avaliar a remoção em concentrações menores de esgoto sanitário poderia indicar maior eficiência de biorremediação. Quanto maior a concentração de esgoto maior a fase de adaptação e maior a concentração de nutrientes a ser consumido e removido.

Além disso, o cultivo em que se analisou a remoção dos nutrientes houve crescimento inferior comparado a demais experimentos do grupo de pesquisa NPDEAS. Esse baixo crescimento também pode ter contribuído para que houvesse uma redução baixa dos parâmetros físicos e químicos em questão.

Mesmo com a redução promovida pelo crescimento da microalga nesse estudo os valores de DBO_5 e nitrogênio amoniacal ultrapassam os limites exigidos pela legislação (CONAMA nº 430). Os demais parâmetros não possuem limites estabelecidos por essa Resolução. Mesmo com os resultados não atingindo os padrões de lançamentos da legislação vigente, as reduções evidenciam o potencial de biorremediação do esgoto sanitário pela microalga do gênero *Scenedesmus*.

A TABELA 16 apresenta um resumo de todos os dados de crescimento celular e biomassa obtidos nesse trabalho com as respectivas condições de cultivo em cada experimento. Todos os dados apresentados foram realizados em triplicata.

7 TRABALHOS FUTUROS

Durante esse trabalho foi possível obsevar algumas limitações e dificuldades em alcançar valores altos de número de células e remoção de nutrientes. Com base nesses dados, conclui-se que há a necessidade de desenvolver mais experimentos com a obtenção de mais dados. Dentre as etapas futuras pode-se citar:

- Realização de cultivos com períodos mais longos visando a redução completa dos nutrientes no meio;
- Avaliar a redução de parâmetros físicos e químicos em diferentes concentrações de esgoto sanitário a fim de identificar a melhor condição de cultivo permitindo crescimento e biorremediação satisfatórios;
- Analisar composição química do esgoto sanitário investigando a presença de compostos tóxicos à microalga;
- Avaliar a viabilidade de aplicação da biomassa de microalgas para outros fins além do biodiesel, como por exemplo, ração animal ou suplementação alimentar;
- Estimar a eficiência do processo em larga escala;
- Realizar Análise de Ciclo de Vida (ACV) da cadeia produtiva de biomassa de microalgas em esgoto sanitário.

8 CONCLUSÃO

Com o presente estudo, foi possível verificar o potencial do esgoto sanitário como meio alternativo para a microalga. Os melhores resultados foram obtidos nos cultivos em reatores *airlift* com a diluição de 35%. No primeiro cultivo nesse reator, tal diluição atingiu concentração celular de $3061 \pm 668 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ e $0,864 \pm 0,04 \text{ g.L}^{-1}$ de biomassa seca ao 14º dia de cultivo. Na repetição dessa diluição e das condições, os resultados foram inferiores, $1773 \pm 25 \times 10^4 \text{ cel.mL}^{-1}$ e aumento de biomassa seca de $0,46 \pm 0,02 \text{ g.L}^{-1}$.

Mesmo com a concentração celular menor que no primeiro o cultivo de 35%, o último cultivo permitiu avaliar a remoção dos nutrientes como nitrogênio amoniacal (76%), DQO (36%), DBO₅ (52%), fósforo (3%) e sólidos suspensos totais (3%). Mesmo não atingido os limites exigidos pela resolução CONAMA nº 430 para nitrogênio amoniacal e DBO₅ tais percentagens demonstram o potencial de biorremediação do esgoto pela microalga e facilitam o tratamento e descarte adequado do efluente. Além disso, permite-se reduzir custos utilizando um rejeito como meio de cultivo para o cultivo de biomassa com valor agregado.

REFERÊNCIAS

ALVA, M. S.; LUNA-PABELLO, V. M.; CADENA, E.; ORTÍZ, E. Green microalgae *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 146, p. 744–748, 2013.

AMARAL, D.F. **Desmistificando o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel**. São Paulo: ABIOVE, 2009. 21 p. Relatório técnico.

ARAD, S.; LEVY-ONTMAN, O. Red microalgal cell-wall polysaccharides: biotechnological aspects. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 358–364, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8160**: Sistemas prediais de esgoto sanitário – projeto e execução. Rio de Janeiro, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISSO/IEC 17025**: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

ATABANI, A.E.; SILITONGA, A.S.; BADRUDDIN, I.A.; MAHLIA, T.M.I.; MASJUKI, H.H.; MEKHILEF, S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, p. 2070– 2093, 2012.

AZEREDO, V. B. S. **Produção de Biodiesel a partir do cultivo de microalgas**: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil. 188 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BALMANT, W.; OLIVEIRA, B. H.; MITCHELL, D. A.; VARGAS, J. V. C.; ORDONEZ, J. C. Optimal operating conditions for maximum biogás production in anaerobic bioreactors. **Applied Thermal Engineering**, v. 62, p. 197-206, 2014.

BANSE, M.; VAN MEIJL, H.; TABEAU, A.; WOLTJER, G. Will EU Biofuel Policies affect Global Agricultural Markets? **Agricultural Economics Research**

Institute (LEI), Wageningen UR, The Hague, 2008. Disponível em: <<http://edepot.wur.nl/38099>>. Acesso em: 13 jun 2012.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **Algae – Anatomy, biochemistry, and biotechnology**. Boca Raton: Taylor e Francis Group, 2006. 320 p.

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

BOAMAR, P.F.A. **Combustíveis Automotivos – Especificações Técnicas, Tributos e Legislação**. 1.ed. Florianópolis: Editora Insular, 2010. ISBN: 978-85-7474-508-4.

BRASIL. Decreto-lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.

BRASIL. Resolução ANP n. 7, de 19 de março de 2008. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 mar. 2008.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 053, p. 58-63, 18 mar. 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 430 de 13 de maio de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 92, p. 89, 16 mai. 2011.

CARVALHO JÚNIOR, RUI MIGUEL DE. **Desenvolvimento e análise energética do processo de obtenção do biodiesel de microalga por metanolise in situ**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

CARVALHO JÚNIOR, R. M.; VARGAS, J. V. C.; RAMOS, L. P.; MARINO, C. E. B.; TORRES, J. C. L. Microalgae biodiesel via in situ methanolysis. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 86, p. 1418-1427, 2011.

CHEN, C-Y.; YEH, K-L.; AISYAH, R.; LEE, D-J.; CHANG, J-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 71–81, 2011.

CHU, S. P. The influence of the mineral composition if the medium on the growth of planktonic algae. **Journal of Ecology**, v. 30, n. 2, p. 284–325, 1942.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DA INDÚSTRIA. **Matriz energética: Cenários, oportunidades e desafios**. Brasília: CNI, 2007, 82 p. ISBN: 978-85-88566-66-8.

D'AQUINO, CAMILA AGNER. **Desenvolvimento de materiais poliméricos transparentes para fotobioreatores**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

D'AQUINO, C.A.; MUNARO, M.; BALMANT, W.; VARGAS, J.V.C.; AMICO, S.C.; RIBEIRO, R.L.L. A simplified mathematical model to predict PVC photodegradation in photobioreactors. **Polymer Testing**, v. 31, p. 638-644, 2012.

DILAY, EMERSON. **Modelagem e simulação para engenharia de sistemas: acondicionamento de eletrônicos, navios elétricos e fotobioreatores**. 199 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

DZUMAN, MARIA JUDITE. **Efeito da reciclagem repetida do meio de cultivo da microalga *Scenedesmus sp.* para a produção de biodiesel**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

FOX, J.; WEISBERG, S. Nonlinear regression and nonlinear least squares in R. IN. _____. **An R companion to applied regression**. 2nd. ed. London: SAGE, 2011.

HARUN, R.; DANQUAH, M.K. Enzymatic hydrolysis of microalgae biomass for bioethanol production. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 1079-1084, 2011.

HOLLANDER, M.; WOLFE, D. A. **Nonparametric Statistical Methods**. New York: John Wiley e Sons. Pages 115–120, 1973.

HORNES, M.; SILVA, A. G.; MITTERER, M. L.; QUEIROZ, M. I. Influência dos compostos nitrogenados na concentração de proteína da cianobactéria

Aphanothece microscopica Nägeli. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 364-371, 2010.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Pesquisa **Nacional de Saneamento Básico**. Rio de Janeiro, 2010. 219 p. Relatório técnico.

INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 20 nov. 2013.

KARAM, L. M.; SOCCOL, C. R. Efeito da temperatura e pH no cultivo de Spirulina major. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007.

KOH, M . Y.; GHAZI, T. I. M. A review of biodiesel production from Jatropha curcas L. oil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 2240–2251, 2011.

LAMMENS, T.M.; FRANSSEN, M.C.R.; SCOTT, E.L.; SANDERS, J.P.M. Availability of protein-derived amino acids as feedstock for the production of bio-based chemicals. **Biomass Bioenergy**, v. 44, p. 168–181, 2012.

LEMOS, JACQUELINE DE SOUZA. **Desenvolvimento de sistema de tratamento e reciclagem de meio de cultivo de microalgas para produção de biodiesel**. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

LEUNG, D.Y.C.; WU, X.; LEUNG, M.K.H. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. **Applied Energy**, v. 87, p. 1083–1095, 2010.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas – princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. ISBN 8576561131.

MARIANO, A. B.; RAMOS, L. P.; VARGAS, J. V. C; PULLIAN, R.; BALMANT, W.; MORAIS, K. C. C.; DZUMAN, M. J.; ARANTES, A. C. C. Comparação de meios de cultivo autotróficos, mixotróficos e heterotróficos para produção de biomassa de microalga com foco em biocombustíveis e coprodutos. In: 5º Congresso Internacional de Bioenergia, 2009, Curitiba. 5º Congresso Internacional de Bioenergia; 1º Congresso Brasileiro de Geração Distribuída e

Energias Renováveis, 2010.

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

MIYAWAKI, BRUNO. **Purificação de biogás através de cultivo de microalgas em resíduos agroindustriais.** 135f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MIYAWAKI, B.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B.; CORREA, D. O.; SANTOS, B.; SAKUMA, A. C.; SELESU, N. F. H.; PEIXOTO, P. H. R.; SILVA, D. A.; TAHER, D. M.; DILAY, E. **Fotobiorreator tubular para tratamento integrado de efluentes líquidos e emissões.** Universidade Federal do Paraná. BR1020130263, 14 out. 2013.

MOORE, D. S. **A estatística básica e sua prática.** Tradução de Alfredo Alves de Farias. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2000. 482 p. Título original: *The basic practice os statistics*

MORAIS, KELLI C. C. **Análise e desenvolvimento de aquicultura da microalga *Phaeodactylum tricornutum* em crescimento autotrófico e mixotrófico em fotobiorreatores compactos.** 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

MORAIS, K. C. C.; RIBEIRO, R. L. L.; SANTOS, K. R.; TAHER, D.M.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. *Phaeodactylum tricornutum* micralagae growth rate in heterotrophic and mixotrophic conditions. **Engenharia Térmica**, v. 8, p. 84-89, 2009.

MOTA, F. S.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitários: utilização e remoção.** Rio de Janeiro: ABES, 2009. ISBN: 978-85-7022-164-3.

NUVOLARI, A.; MARTINELLI, A.; TELLES, D.D'ALKIMIN; RIBEIRO, J. T.; MIYASHITA, N. J.; RODRIGUES, R. B.; ARAUJO, R. **Esgoto sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso.** 2. ed. São Paulo: Bluncher, 2011

OLIVEIRA, ANNE CAROLINE DEFANCESCHI. **Síntese enzimática do biodiesel de microalgas a partir de lipases produzidas por fungos endofíticos.** 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013a.

OLIVEIRA, AMANDA CRISTINA. **Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus Sp.* em efluente de bovinocultura biodigerido.** 82 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013b.

OLIVEIRA, A. C. D.; WATANABE, F. M. F.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B.; RODRIGUES, M. L. F. Comparação entre três bioprocessos para a produção de enzimas proteolíticas utilizando resíduos agroindustriais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, p. 831-831, 2012a.

OLIVEIRA, A. C. D.; MARIANO, A. B. ; WATANABE, F. M. F.; VARGAS, J. V. C.; RODRIGUES, M. L. F. Production of methyl oleate with a lipase from an endophytic yeast isolated from castor leaves. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 295-300, 2012b.

OLIVEIRA, A. C. D.; VARGAS, J.V.C.; MARIANO, A. B.; RODRIGUES, M.L.F. Utilização de resíduos da agroindústria para a produção de enzimas lipolíticas por fermentação submersa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, p. 19-26, 2013a.

OLIVEIRA, A. C. D.; WATANABE, F. M. F.; RODRIGUES, M. L. F.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B. Lipase production by endophytic yeast through factorial desing. **Academia Journal of Microbiology Reserch**, v. 1, p. 16-21, 2013b.

ONG, H.C.; MAHLIA, T.M.I.; MASJUKI, H.H.; NORHASYIAMA, R.S. Comparison of palm oil, *Jatropha curcas* and *Calophyllum inophyllum* for biodiesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, V. 115, p. 3501-3515, 2011.

PARENTE, E.J.S. **Biodiesel: Uma Aventura Tecnológica num País Engraçado**, 1 ed. Unigráfica, Fortaleza, 2003.

PHOTOBIOREACTOR. Disponível em:
<http://www.et.byu.edu/~wanderto/homealgaeproject/Photobioreactor.html>. Acesso em: 05 out. 2013.

PIVELI, R. P. Tratamento de esgotos sanitários. Disponíveis em:
<http://www.ctec.ufal.br/professor/elca/APOSTILA%20-%20TRATAMENTO%20DE%20ESGOTOS.pdf>. Acesso em: 01/06/2013.

PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototropic microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 57, p. 287-293, 2001.

RAMOS, L.P.; KUCEK, K.; DOMINGOS, A.K.; WILHEM, H.M. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e socio-ambiental para o Brasil. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 31, p. 28–37, 2003.
RASHID, N.; REHMAN, M.S.U.; MEMON, S.; RAHMAN, Z.U.; LEE, K.; HAN, J-I. Current status, barriers and developments in biohydrogen production by microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 22, p. 571-579, 2013

RIBEIRO, R. L. L.; MARIANO, A. B.; SOUZA, J. A.; VARGAS, J. V. C. Transient modeling and simulation of compact photobioreactor. **Engenharia Térmica**, v. 7, p. 66-71, 2008.

RIBEIRO, R. L. L.; MARIANO, A. B.; DILAY, E.; SOUZA, J. A.; ORDONEZ, J. C.; VARGAS, J. V. C. The temperature response of compact tubular microalgae photobioreactors. **Engenharia Térmica**, v. 8, p. 50-55, 2009.

SAKUMA, ANDERSON CARDOSO. **Desenvolvimento e análise experimental de biodigestores modulares de baixo tempo de residência**. 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SATYANARAYANA, K. G.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. **International Journal of Energy Research**, Curitiba, v. 35, p. 291-311, 2011.

SCENEDESMUS. Disponível em:
<http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/chlorophyta/scenedesmus/index.html>. Acesso em 05 out. 2013

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 9, p. 199–210, 1998.

SILVA, A. G.; CARTER, R.; MERSS, F. L. M.; CORRÊA, D. O.; VARGAS, J.V.C.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C.; SCHERER, M. D. Life cycle assessment of biomass production in microalgae compact photobioreactors. **Global Change Biology Bioenergy**, 2013 (não publicado).

SOARES, D. **Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo.** 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SOARES, D.; MARIANO, A. B.; Becker, A. G.; VARGAS, J. V. C.; LUZ JUNIOR, L. F. L.; NOSEDA, M. D.; MITCHELL, D. A. Metodologias para obtenção de biomassa e extração de lipídeos de microalgas marinhas. In: PEREIRA, T. C. G. (Copel - Paraná). (Org.). **Dossiê de Pesquisa Fontes Renováveis de Energia.** 1ed. Curitiba: Via Laser Gráfica e Editora, 2010, p. 147-159.

SUGAI-GUERIOS, M. H.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C.; LUZ JUNIOR, L. F. L.; MITCHELL, D. A. Mathematical model of the CO₂ solubilization reaction rates developed for the study of photobioreactors. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, 2013 (não publicado).

SZARBLEWSKI, M. C.; SCHNEIDER, R. C. S. Remoção de gás sulfídrico de efluentes gasosos. In: 34^a REUNÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. 2011, Florianópolis.

TAHER, D.M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejeto suíno biodigerido.** 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2013.

TRATABRASIL. **Esgotamento sanitário inadequado e impactos na saúde da população.** Trata Brasil, 2010. 11p. Relatório técnico.

TORRENS, J.; VARGAS, J. V. C.; TELLES, E. C.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C. Biodiesel from microalgae: the effect of fuel properties on pollutant emissions. **Engenharia Térmica**, v. 7, p. 35-43, 2008.

VARGAS, V. J. C.; BALMANT, W.; STALL, A.; MARIANO, A. B.; ORDONEZ, J. C.; HOVSAPIAN, Z.; DILAY, E. **Photobioreactor System.** US2012088296-A1 / WO2012050608-A1, 12 out. 2011, 12 abr. 2012.

VENDRUSCULO, J. B. G. **Cultivo da microalga *Scenedesmus quadricauda* em efluentes de biodigestão de aves e suínos.** 45 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura Continental). Universidade Católica de Goiás, 2009.

VON SPERLING, M. **Lodos ativados.** 4. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

YEN, H-W.; HU, C-I.; CHEN, C-Y.; HO, S-H.; LEE, D-J.; CHANG, J-S. Microalgae-based biorefinery – From biofuels to natural products. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 166–174, 2013.

WOERTZ, I.; FEFFER, A.; LUNDQUIST, T.; NELSON, Y. Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock. **Journal of Environmental Engineering**, v. 135, n. 11, p. 1115-1122, 2009.

ANEXOS

ANEXO 01 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MEIO CHU MODIFICADO 101	
ANEXO 02 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 138940 (CEPPA) – PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ESGOTO DILUÍDO 102
ANEXO 03 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 138941 (CEPPA) – PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ESGOTO BRUTO.. 103
ANEXO 04 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 139428 (CEPPA) – PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ESGOTO BIODIGERIDO 104
ANEXO 05 – CERTIFICADO DE ANÁLISE Nº 139576 (CEPPA) – PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS ESGOTO TRATADO 105

ANEXO 01

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO MEIO CHU MODIFICADO

REAGENTE	FÓRMULA	QUANTIDADE (g.L ⁻¹)
Nitrato de sódio	NaNO ₃	0,25
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,025
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075
Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄	0,075
Fosfato de potássio monobásico	KH ₂ PO ₄	0,175
Cloreto de sódio	NaCl	0,025
Tríplex III/EDTA	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	0,05
Hidróxido de potássio	KOH	0,031
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO ₄	0,00498
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,01142
Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82 10 ⁻⁶
Cloreto de manganês tetra-hidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44 10 ⁻⁶
Molibdato de sódio	NaMoO ₄ .2H ₂ O	1,19 10 ⁻⁶
Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57 10 ⁻⁶
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,49 10 ⁻⁶

