

Universidade Federal do Espírito Santo
Centro Tecnológico
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

HELENICE SILVA DE JESUS TORRES

**CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTE DE
TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ESGOTO**

VITÓRIA-ES
Fevereiro/2014

HELENICE SILVA DE JESUS TORRES

CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTE DE TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ESGOTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Franci Gonçalves

VITÓRIA - ES
Fevereiro/2014

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

T693c Torres, Helenice Silva de Jesus, 1972-
Cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de
esgoto / Helenice Silva de Jesus Torres. – 2014.
187 f. : il.

Orientador: Sérgio Túlio Alves Cassini.
Coorientador: Ricardo Franci Gonçalves.
Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico.

1. Microalga. 2. Esgotos. 3. Dióxido de carbono. 4. Biorreatores. 5.
Águas residuais - Purificação - Tratamento biológico. 6. Efluente. I.
Cassini, Sérgio Túlio Alves. II. Gonçalves, Ricardo Franci. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Tecnológico. IV. Título.

CDU: 628

“Cultivo de microalgas em efluente de tratamento de anaeróbio de esgoto”

HELENICE SILVA DE JESUS TORRES

Banca Examinadora

Prof. Dr. Sérgio Túlio Alves Cassini
Orientador - DEA/CT/UFES

Prof. Dr. Ricardo Franci Gonçalves
Co-orientador - DEA/CT/UFES

Prof. Dr.
Examinador Interno - DEA/CT/UFES

Profa. Dra.
Examinadora Interna - DEA/CT/UFES

Profa. Dra.
Examinadora Externa -

Prof. Dr.
Examinador Externo -

inserir página

A Emárcio, meu esposo.
E aos meus filhos, Karen e Júlio.

*Mesmo quando tudo parece desabar,
cabe a mim decidir entre rir ou chorar,
ir ou ficar, desistir ou lutar;
porque descobri,
no caminho incerto da vida,
que o mais importante é o decidir.*

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por nela estar sempre presente guiando-me na fé e na perseverança.

Aos meus pais, Antonio (*in memoriam*) e Eunice, pelo exemplo de vida e conduta. A meu esposo Emárcio pelo apoio e incentivo em todos momentos para realização deste trabalho. Aos meus filhos, Karen e Julio, que enchem de alegria e de amor os meus dias.

A minha irmã Rosely que sempre esteve ao meu lado com uma palavra ou gesto de afeto e motivação. A Profa. Laura pela amizade e ao meu amigo Gemael pela solidariedade em momentos cruciais desta jornada. A Paula Miqueleto, Jéssica Goulard, Eliane Araújo, Vitor Mateus e em especial a Stjephan pela valiosa participação nesta pesquisa. A querida Elaine pela prestatividade e apoio incondicional nas atividades de Laboratório.

Ao professor Dr. Sérgio Túlio pela orientação e ensinamentos. Ao professor Dr. Ricardo Franci pela co-orientação.

À professora Dra. Iracema Andrade Nascimento pela receptividade no Laboratório de Biologia Marinha e Biomonitoramento do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (LABIOMAR-UFBA).

A todos os colegas do Laboratório de Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo (LABSAN/UFES), pelos momentos compartilhados e a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da UFES pela oportunidade.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

θ - tempo de detenção hidráulico

σ - desvio padrão

x - média

μg - micrograma

μm - micrometro

Al^{+3} - cátion alumínio

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ - sulfato de alumínio

ASTM - American Society for Testing and Materials

BA - Estado da Bahia

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ - cal hidratada

Ca^{+2} – cátion cálcio

$\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ - hidroxiapatita

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - fosfato de cálcio

CaCO_3 – carbonato de cálcio

CESAN - Companhia Espírito Santense de Saneamento

CH_4 – metano

Cl^{-1} – ânion cloro

CO_2 - dióxido de carbono

CO_3^{-2} – íon carbonato

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

CV – cavalo vapor

d – dia

DBO- demanda bioquímica de oxigênio

DBO_5 - demanda bioquímica de oxigênio referente ao 5º dia

DEA/CT – Departamento de Engenharia Ambiental/Centro Tecnológico

DQO - demanda química de oxigênio

EFA – efluente de UASB autoclavado

EFN – efluente de UASB natural

ES - Estado do Espírito Santo

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

EUA – Estados Unidos da América

FBR – fotobiorreator
FBR-TPSF – fotobiorreator tubular semi-fechado
g – grama
Gt - gigatoneladas
h - hora
H - profundidade
H⁺ - próton
HCO₃⁻¹ – íon bicarbonato
H₀ - hipótese nula
H₁ - hipótese alternativa
H₂ – hidrogênio
H₂O - água
ha – hectare
hab - habitante
INMET – Instituto Nacional de Meteorologia
J - Joule
K⁺¹ – cátion potássio
kg - quilograma
kJ - kilojoule
L - litro
lx – lux
m - metro
m² – metros quadrados
m³ – metros cúbicos
mg – miligrama
Mg(NH₄)PO₄ - estruvita
Mg⁺² – cátion magnésio
min - minuto
mL - mililitros
mm - milímetro
mM – milimolar
MS – massa seca
N – nitrogênio

n - tamanho da amostra
 Na^{+1} – cátion sódio
 NaHCO_3 – bicarbonato de sódio
NBR - Norma Brasileira Registrada
 NH^{+4} - cátion amônio
 NH_3 - amônia
 N_t – nitrogênio total
NTK - nitrogênio total Kjeldahl
NTU - unidade nefelométrica de turbidez
O – oxigênio
 O_2 – oxigênio molecular
 $^{\circ}\text{C}$ - grau Celsius
 OH^- - íon hidroxila
ONU – Organização das Nações Unidas
P – fósforo
p - probabilidade
pH - potencial hidrogeniônico
 P-PO_4^{-3} - íon fosfato
 P_t - fósforo total
%p/v – percentual peso/volume
PVC – policloreto de vinil
Q - vazão
rpm – rotação por minuto
s- segundo
 SO_4^{-2} – íon sulfato
SST - sólidos suspensos totais
ST - sólidos totais
SV - sólidos voláteis
TDH - tempo de detenção hidráulica
TFQ – tratamento físico-químico
UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket
UFES - Universidade Federal do Espírito Santo
V – volume

RESUMO

A produção de biomassa microalgácea para biocombustíveis é uma alternativa promissora, e a utilização de efluentes de tratamento de águas residuárias é uma estratégia para a redução de custos de produção através do aproveitamento de nutrientes disponíveis nestes efluentes. Neste trabalho foram isolados de efluente de tratamento de esgoto, seis microalgas identificadas como *Desmodesmus* sp. L02; *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradesmus* sp. L09. Destacou-se a *Chlorella* sp. L06 que apresentou sobrevivência em efluente de UASB natural (EFN) maior que 90%. As biomassas secas dos isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB autoclavado (EFA) apresentaram, em média, 28,7% de proteínas totais, 15,4% de lipídios totais e 14,8% de carboidratos totais. Após a remoção da biomassa dos isolados do cultivo em laboratórios, através da adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio como coagulante, observou-se a remoção de 59,2% a 93% de nitrogênio e de 79,1 a 95,4% de fósforo pelos isolados *Desmodesmus* sp. L02 e *Tetradesmus* sp. L09, respectivamente. A *Chlorella* sp. L06 apresentou a maior taxa de crescimento com base em clorofila-a para o cultivo em EFA com adição de 0,25% de NaHCO₃ (9.726,4 µg/L.d). Também foram realizados testes operacionais em um fotobiorreator tubular plástico semi-fechado (FBR-TPSF) para produção de biomassa microalgácea em efluente de UASB sob condições naturais de temperatura e luminosidade. A maior produtividade de biomassa, 0,17kg/m³.d, foi registrada nos testes no FBR-TPSF quando funcionou com TDH=1d sem recirculação. As biomassas secas dos tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, apresentaram 25,1%, 23,3%, 11,1% e 7,7% de proteínas totais; 13,5%, 11,0%, 10,2% e 10,5% de lipídios totais e 9,7%, 6,8%, 13,4% e 16,5% de carboidratos totais, respectivamente. A remoção da biomassa do cultivo do FBR-TPSF com coagulante resultou na remoção de fósforo em até 95,1%.

PALAVRAS-CHAVE: efluente, fotobiorreator, gás carbônico, tratamento de esgoto, microalgas.

ABSTRACT

The production microalgal biomass for biofuels is a promising alternative, and the use of effluent wastewater treatment is a strategy to reduce production costs utilizing available nutrients in these effluents. In this work were isolated from effluent wastewater treatment six microalgae identified as *Desmodesmus* sp. L02; *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 and *Tetradesmus* sp. L09. The *Chlorella* sp. L06 showed survival greater than 90% in natural UASB reactor effluent (EFN). The dry biomass of isolates culturing in UASB effluent autoclaved (EFA) showed mean 28,7% of total proteins, 15,4% of the total lipids and 14,8% of total carbohydrates. After removal of microalgal biomass culturing in the laboratory by the addition of 250 mg/L of aluminum sulfate was observed removal values of 59,2% and 93% of nitrogen and 79,1 to 95,4% phosphorus by isolates *Desmodesmus* sp. L02 and *Tetradesmus* sp. L09, respectively. The *Chlorella* sp. L06 showed highest growing rate based on chlorophyll-a (9.726,4 $\mu\text{g/L.d}$) when culturing in EFA with addition of 0,25% NaHCO_3 . Operational tests were also conducted in a semi-closed plastic tubular photobioreactor (FBR-TPSF) for production of microalgal biomass in UASB effluent under natural conditions of temperature and luminosity. The highest yield of biomass, 0,17 $\text{Kg/m}^3\text{.d}$ was recorded with tests in FBR-TPSF when worked with $\text{TDH}=1\text{d}$ without recirculation. The dried biomass of the treatments 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q showed 25,1%, 23,3%, 11,1% and 7,7% total proteins, 13,5%, 11,0%, 10,2% and 10,5% total lipids and 9,7%, 6,8%, 13,4% and 16,5% total carbohydrates, respectively. The removal of the biomass cultivation FBR-TPSF by coagulant showed removal efficiency to phosphorus, reaching maximum value of 95,1%.

KEYWORDS: effluent, photobioreactor, carbon dioxide, microalgae, wastewater treatment.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|-------------|
| LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS | VII |
| RESUMO | X |
| ABSTRACT | XI |
| SUMÁRIO | XII |
| LISTA DE TABELAS | XV |
| LISTA DE FIGURAS | XVII |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 OBJETIVOS | 5 |
| 2.1 Objetivo geral | 5 |
| 2.2 Objetivos específicos | 5 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 6 |
| 3.1 Esgoto sanitário e o tratamento anaeróbio | 6 |
| 3.2 Microalgas e sua importância econômica e ambiental | 12 |
| 3.3 Isolamento e identificação de microalgas | 14 |
| 3.4 Cultivo de microalgas | 15 |
| 3.4.1 Nutrientes | 15 |
| 3.4.2 Temperatura e pH | 17 |
| 3.4.3 Luminosidade e fonte de carbono | 18 |
| 3.4.4 Cultivo de microalgas em efluente de Estação de Tratamento de Esgotos (ETEs) | 21 |
| 3.5 Fotobiorreatores (FBRs) | 22 |
| 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 25 |
| 5 ARTIGO I – Isolamento, sobrevivência e caracterização da biomassa de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto sanitário visando a produção de biocombustíveis. | |

| | |
|---|------------|
| Resumo | 34 |
| Abstract | 35 |
| 1. Introdução | 36 |
| 2. Material e métodos | 41 |
| 3. Resultados e discussão | 47 |
| 4. Conclusão | 60 |
| 5. Agradecimentos | 61 |
| 6. Referências bibliográficas | 61 |
| | |
| 6 ARTIGO II - Potencial de crescimento de biomassa microalgácea em efluente de tratamento de esgoto sanitário com inserção de diferentes fontes de CO₂. | |
| Resumo | 68 |
| Abstract | 69 |
| 1. Introdução | 70 |
| 2. Material e métodos | 73 |
| 3. Resultados e discussão | 78 |
| 4. Conclusão | 92 |
| 5. Agradecimentos | 92 |
| 6. Referências bibliográficas | 92 |
| | |
| 7 ARTIGO III – Cultivo de microalgas em efluente de UASB em um fotobiorreator tubular plástico semi-fechado visando à produção de biomassa microalgácea. | |
| Resumo | 99 |
| Abstract | 100 |
| 1. Introdução | 101 |
| 2. Material e métodos | 104 |
| 3. Resultados e discussão | 111 |
| 4. Conclusão | 123 |
| 5. Agradecimentos | 124 |
| 6. Referências bibliográficas | 124 |
| | |
| 8 DISCUSSÃO FINAL | 133 |
| | |
| 9 CONCLUSÕES FINAIS | 137 |

| | |
|---|------------|
| 10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS FINAIS | 139 |
|---|------------|

APÊNDICES

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|--|--------|
| Tabela 1 Padrões e/ou condições de lançamento de efluentes de sistemas de tratamento de esgotos sanitários segundo a Legislação Brasileira (adaptado de Brasil, 2011). | 7 |
| Tabela 2 Composição dos esgotos em etapas do tratamento por reatores anaeróbios e lagoas de polimento (Cavalcanti <i>et al.</i> , 2001). | 8 |
| Tabela 3 Composição química de diferentes microalgas (Becker, 1994). | 13 |
| Tabela 4 Vantagens e desvantagens de diferentes fotobiorreatores utilizados para cultivo de microalgas (Bahadar e Khan, 2013). | 23 |
| Tabela I.1 Caracterização físico-química do efluente de UASB natural e autoclavado ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, n=3). | 48 |
| Tabela I.2 Percentual diário e média de sobrevivência dos isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB natural (EFN), sob condições de laboratório. | 52 |
| Tabela I.3 Médias dos resultados de caracterização físico-química da biomassa seca dos isolados de microalgas, cultivados em efluente de UASB autoclavado, sob condições laboratoriais. ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, para n=3 e para as médias de proteínas e de sólidos voláteis seguidas de mesma letra não diferem significativamente ao nível de P=0,05). | 54 |
| Tabela I.4 Teores de clorofila-a e percentual de remoção por coagulação/precipitação da biomassa após adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio ($Al_2(SO_4)_3$) aos cultivos dos seis isolados de microalgas cultivados em EFA, à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média contínua de 4.700lx. | 57 |
| Tabela I.5 Percentual de remoção de parâmetros físico-químicos com adição de sulfato de alumínio aos cultivos de isolados de microalgas. | 58 |
| Tabela II.1 Descrição dos tratamentos de adição de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) e de carbonato de cálcio ($CaCO_3$) como fonte de carbono ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB | 75 |

natural (EFN).

| | |
|--|-----|
| Tabela II.2 Descrição dos tratamentos de adição de diferentes fontes de CO ₂ ao cultivo das microalgas: <i>Desmodesmus</i> sp. L02, <i>Chlorococccum</i> sp. L04; <i>Coccomyxa</i> sp. L05; <i>Chlorella</i> sp. L06; <i>Scenedesmus</i> sp. L08 e <i>Tetradasmus</i> sp. L09, e de um cultivo misto, em efluente de UASB autoclavado, em laboratório. | 77 |
| Tabela II.3 Caracterização físico-química do efluente de UASB natural e após autoclavagem ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, onde n=3). | 79 |
| Tabela II.4 Médias de pH e turbidez para cultivo misto de microalgas em efluente de UASB natural (EFN) com adição de diferentes concentrações de carbonato de cálcio (CaCO ₃) sob condições laboratoriais ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, onde n=3). | 83 |
| Tabela II.5 Médias de pH e turbidez para cultivo misto de microalgas em efluente de UASB natural (EFN) com adição de diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) sob condições laboratoriais ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, onde n=3). | 84 |
| Tabela II.6 Taxas de crescimento, com base em clorofila-a, dos seis isolados e um misto de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto do UASB com adição de diferentes fontes de CO ₂ sob condições temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro) | 90 |
| Tabela II.7 Taxas de crescimento, com base em sólidos voláteis, dos seis isolados e um misto de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto do UASB com adição de diferentes fontes de CO ₂ sob condições de temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). | 90 |
| Tabela III.1 Condições operacionais testadas no FBR-TPSF. | 107 |
| Tabela III.2 Balanço de massa para o FBR-TPSF sob diferentes condições operacionais. | 116 |
| Tabela III.3 Média geral para cada tratamento após dez dias de cultivo no FBR-TPSF ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, onde n=3). | 119 |

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Figura I.1 Reservatório contendo efluente de UASB+biofiltro+decantador da ETE/UFES-ES para crescimento natural de microalgas e posterior isolamento. | 42 |
| Figura I.2 Fotos da sequência do cultivo para a obtenção da massa seca de biomassa dos isolados, misto e do cultivo natural em efluente de tratamento de esgoto: (a) cultivo de microalgas para produção de biomassa; (b) floculação do cultivo com adição de sulfato de alumínio; (c) decantação e remoção de amostra do sobrenadante; (d) centrifugação da biomassa após decantação; (e) secagem em estufa (65°C) da biomassa microalgácea; (f) armazenamento da biomassa seca e triturada para caracterização bioquímica. | 44 |
| Figura I.3 Identificação das seis microalgas isoladas de efluente de tratamento de esgoto sanitário da ETE/UFES–Goiabeiras. | 49 |
| Figura I.4 Microalgas isoladas de efluente de UASB+biofiltro+decantador, fotos ao microscópio óptico (x400): (a) <i>Desmodesmus</i> sp. L02; (b) <i>Chlorococcum</i> sp. L04; (c) <i>Coccomyxa</i> sp. L05; (d) <i>Chlorella</i> sp. L06; (e) <i>Scenedesmus</i> sp. L08; (e) <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 50 |
| Figura I.5 Curva de crescimento e sobrevivência de seis isolados de microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado, em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx, fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro): (a) <i>Desmodesmus</i> sp. L02; (b) <i>Chlorococcum</i> sp. L04; (c) <i>Coccomyxa</i> sp. L05; (d) <i>Chlorella</i> sp. L06; (e) <i>Scenedesmus</i> sp. L08; (f) <i>Tetradesmus</i> sp. L09. | 51 |
| Figura I.6 Curva de crescimento com base em clorofila-a dos seis isolados de microalgas, cultivados em efluente de UASB autoclavado (EFA) com aeração, em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h claro/escuro. | 54 |
| Figura I.7 Caracterização físico-química da biomassa de seis microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado, em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média de 4.700 lx. <i>Desmodesmus</i> sp. L02; <i>Chlorococcum</i> sp. L04; | 56 |

Coccomyxa sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradesmus* sp. L09 (barra de erros=desvio padrão, n=3)

Figura I.8 Caracterização físico-química da biomassa, por isolado de microalgas cultivadas em EFA em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média de 4.700 lx. *Desmodesmus* sp. L02; *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradesmus* sp. L09. 56

Figura I.9 – Aspecto visual do sobrenadante após a remoção de biomassa dos isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB autoclavado, através da coagulação com sulfato de alumínio. Da esquerda para direita: 02=*Desmodesmus* sp. L02; 04=*Chlorococcum* sp. L04; 05=*Coccomyxa* sp. L05; 06=*Chlorella* sp. L06; 08=*Scenedesmus* sp. L08 e 09=*Tetradesmus* sp. L09; EF=EFA sem adição de coagulante e EF-Al=EFA após coagulação/precipitação. 58

Figura I.10 Caracterização físico-química do sobrenadante do cultivo dos isolados de microalgas à temperatura ambiente (18 a 31 °C) e luminosidade média constante de 4.700 lx após remoção da biomassa pela adição de 250 mg.L⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ como coagulante. Sendo EFA=efluente de UASB autoclavado; EFA-final: sobrenadante do EFA após adição de coagulante; L02=*Desmodesmus* sp. L02; L04=*Chlorococcum* sp. L04; L05=*Coccomyxa* sp. L05; L06=*Chlorella* sp. L06; L08=*Scenedesmus* sp. L08 e L09=*Tetradesmus* sp. L09 em EFA (barras de erro=desvio padrão, n=3). 60

Figura II.1 Sistema utilizado no cultivo de *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08, *Tetradesmus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente de UASB com adição de diferentes fontes de CO₂, temperatura ambiente, luminosidade média 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h : (a) com sistema de inserção de CO₂ atmosférico e (b) sem sistema de inserção de CO₂ atmosférico. 77

Figura II.2 Teste das concentrações de **bicarbonato de sódio** (NaHCO₃) a ser adicionado como fonte sólida de CO₂ ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB, à temperatura ambiente e luz solar indireta. 81

Figura II.3 Teste das concentrações de **carbonato de cálcio** (CaCO₃) a ser adicionado como fonte sólida de CO₂ ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB, à temperatura ambiente e luz solar indireta. 81

| | |
|---|-----|
| Figura II.4 Resultados de clorofila-a do cultivo misto de microalgas no ensaio da adição de diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) em efluente de UASB, sob temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). | 82 |
| Figura II.5 Resultados de clorofila-a do cultivo misto de microalgas no ensaio da adição de diferentes concentrações de carbonato de cálcio (CaCO ₃) em efluente de UASB, sob temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). | 84 |
| Figura II.6 Curvas de crescimento com base no teor de clorofila-a dos isolados de microalgas em efluente de tratamento de esgoto por UASB, por tratamento de inserção de diferentes fontes de CO ₂ sob temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h. (♦) <i>Desmodesmus</i> sp. L02; (■) <i>Chlorococcum</i> sp. L04; (▲) <i>Coccomyxa</i> sp. L05; (×) <i>Chlorella</i> sp. L06; (*) <i>Scenedesmus</i> sp. L08; (●) <i>Tetradesmus</i> sp. L09; (+) Cultivo misto. | 86 |
| Figura II.7 <i>Box-plot</i> das taxas de crescimento, com base em clorofila-a, do cultivo de <i>Desmodesmus</i> sp. L02, <i>Chlorococcum</i> sp. L04; <i>Coccomyxa</i> sp. L05; <i>Chlorella</i> sp. L06; <i>Scenedesmus</i> sp. L08 e <i>Tetradesmus</i> sp. L09 e um cultivo misto em efluente UASB autoclavado com a adição de diferentes fontes de CO ₂ , sob temperatura ambiente, luminosidade de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). | 91 |
| Figura II.8 <i>Box-plot</i> das taxas crescimento, com base em sólidos voláteis do cultivo de <i>Desmodesmus</i> sp. L02, <i>Chlorococcum</i> sp. L04; <i>Coccomyxa</i> sp. L05; <i>Chlorella</i> sp. L06; <i>Scenedesmus</i> sp. L08 e <i>Tetradesmus</i> sp. L09 e um cultivo misto em efluente de UASB com a adição de diferentes fontes de CO ₂ , sob temperatura ambiente, luminosidade de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). | 91 |
| Figura III.1 Esquema com vista superior do sistema - tratamento anaeróbio UASB+FBR-TPSF: (a) Tanque de Esgoto Bruto; (b) Reator Tipo UASB; (c) Tanque de 2m ³ para estoque e equalização de efluente do UASB; (d) Tanque de entrada e redistribuição do efluente para o FBR-TPSF; (e) “Área de luz” constituída pelas linhas tubulares de plásticos transparente; (f) Tanque de recepção e recirculação do cultivo do FBR-TPSF; (g) Bomba hidráulica para recirculação do cultivo; (h) Registro hidráulico de saída do cultivo do FBR-TPSF; (i) Sistema de tratamento físico-químico (TFQ) para remoção da biomassa; (j) Ponto de lançamento do efluente final. | 105 |

| | |
|---|-----------|
| Figura III.2 Detalhes da estrutura do FBR-TPSF na ETE/UFES: (a) Montagem da estrutura básica do FBR-TPSF; (b) Estrutura do tablado e teste com uma linha tubular plástica; (c) Tanque de entrada do efluente, chegada da recirculação do cultivo e distribuição nivelada por “tulipas” para as seis linhas do FBR-TPSF; (d) Tanque de recepção do cultivo, saída para bomba de recirculação; (e) Acoplamento das linhas tubulares plásticas à estrutura básica do FBR-TPSF; (f) Perfil completo do FBR-TPSF. | 106 |
| Figura III.3 Lodo algáceo seco e triturado, destinado à análise de proteínas totais, lipídios totais, carboidratos totais, sólidos voláteis e DQO. | 109 |
| Figura III.4 Dados de radiação fornecido pelo INMET (Est.A612) e de luminosidade medidos <i>in situ</i> no momento da coleta das amostras para análises. | 112 |
| Figura III.5 <i>Boxplot</i> dos parâmetros ambientais medidos <i>in situ</i> às 13h e dos dados cedidos pelo INMET da Estação Meteorológica A-612 do período de realização do experimento com o FRB-TPSF. | 113 |
| Figura III.6 Caracterização físico-química do efluente-UASB e efluente-TFQ. | 115 |
| Figura III.7 Curva de crescimento das microalgas no FBR-TPSF, utilizando a clorofila-a como parâmetro de referência. | 117 |
| Figura III.8 Variação dos sólidos voláteis durante o cultivo de microalgas no FBR-TPSF. | 117 |
| Figura III.9 Variação da turbidez durante o cultivo das microalgas no FBR-TPSF. | 119 |
| Figura III.10 Variação do pH durante o cultivo das microalgas no FBR-TPSF. | 119 |
| Figura III.11 Caracterização físico-química do lodo algáceo removido do FBR-TPSF. | 120 |
| Figura III.12 Caracterização físico-química do lodo algáceo removido do FBR-TPSF por tratamento. | 120 |

1 INTRODUÇÃO

Como organismos fotossintéticos, as microalgas desempenham um papel importante na captura da energia solar e transformação desta em energia química. Anualmente 5.500×10^{21} J de energia solar alcançam a atmosfera da Terra e isto, segundo Hayward (apud Larkum *et al.*, 2012, p.198), corresponde a aproximadamente 12.000 vezes a demanda global de energia. Portanto, a energia solar não é um fator limitante para produção desta biomassa. Entre as limitações encontradas na produção de microalgas podemos citar os custos com a oferta de nutrientes (que envolve cerca de 60% dos custos de produção de biomassa) e os custos com processos de colheita, secagem e extração de óleo, que consomem 30% dos custos de produção (Chisti, 2007). E para reduzir os custos desta produção pode-se pensar em utilizar águas residuárias de indústrias e estações de tratamento como fonte de nitrogênio e de fósforo, e no aproveitamento do CO₂ da combustão de combustíveis em usinas como fonte de carbono (Huang *et al.*, 2010).

A história do uso comercial de culturas de algas alcança cerca de 75 anos com a aplicação de tratamento de águas residuárias e produção em massa de diferentes estirpes, tais como *Chlorella* e *Dunaliella* (Abdel-Raouf *et al.*, 2012). Geralmente, as pesquisas visando à obtenção de biocombustíveis utilizando-se de biomassa de algas partem do crescimento de determinadas cepas, previamente isoladas em meios artificialmente preparados, e introduzidas para crescimento em fotobiorreatores especificamente construídos. Mas muitas cepas de microalgas são sensíveis a águas residuárias, devido à toxicidade causada por estresses abióticos e bióticos. Naturalmente, as estirpes adaptadas podem crescer eficientemente no efluente de águas residuárias (Benemann, 2008).

Essa abordagem apresenta também outras vantagens decorrentes do crescimento de microalgas associado aos sistemas de tratamento de esgoto, como por exemplo, a melhoria da qualidade final do efluente devido a possível redução dos teores de N e P (Cho *et al.*, 2011; Rawat *et al.*, 2011; Razzak *et al.*, 2013), diminuindo assim os processos de eutrofização decorrentes do lançamento destes efluentes em corpos receptores.

Atualmente as microalgas têm sido incluídas como alternativa de matéria-prima para produção de biocombustíveis (Wang e Lan, 2011) e ainda apresentam vantagens quando comparadas aos vegetais superiores, tais como: maior eficiência fotossintética, podendo ser entre 5 a 10 vezes maior que plantas terrestres (Peccia *et al.*, 2013); maior produção de biomassa por área; a produção não segue regime de safras, sendo a coleta diária; cultivo em áreas não adequadas às culturas tradicionais; a não ocupação de áreas destinadas à produção de alimentos e a possibilidade de utilização de águas residuárias para o seu cultivo (Chisti, 2007).

Além disto, é possível relacionar a conversão do CO₂ da queima do biogás de reatores anaeróbios tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), em biomassa microalgácea, que resulta na atenuação das emissões deste gás. Segundo Ribeiro e Silva (2013), a existência de um mercado de CO₂ pode representar uma redução nos custos, que resulta em preços mais baixos para os biocombustíveis de microalgas.

A remoção de algas do efluente final de sistemas de tratamento de esgotos é exigência frequente dos órgãos de controle ambiental no Brasil, sobretudo nas regiões propícias à eutrofização e em áreas urbanizadas. Por isso diversas

tecnologias de polimento deste tipo de efluente foram desenvolvidas (Oliveira e Gonçalves, 1999) e objetiva principalmente a remoção de algas.

A recuperação da biomassa algácea produzida em lagoas de polimento, tem sido estudado atualmente com foco em sua valorização energética através da produção de biogás, de biodiesel ou de outros combustíveis (Park *et al.*, 2011, Schenk *et al.*, 2008). É oportuno citar o aproveitamento da biomassa algácea na geração de metano que é uma das alternativas possíveis para a geração de energia alternativa (Holm-Nielsen *et al.*, 2009) em Estações de Tratamento de Esgoto. Dentre os processos de tratamento de esgoto, os processos anaeróbios têm entre outras vantagens a geração de biogás para aproveitamento energético, permitindo, assim, a concepção de sistemas de tratamento com elevada sustentabilidade energética e com baixos impactos ambientais. Assim, tendo em vista o interesse concreto de geração de combustíveis a partir de microalgas, a recuperação da biomassa de algas no tratamento de águas residuárias passa a assumir interesse estratégico (Aslan e Kapdan, 2006; Schenk *et al.*, 2008).

Esta pesquisa é parte integrante de um Projeto mais amplo do Núcleo ÁGUA - Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo/UFES, que considera a possibilidade de geração de energia em Estações de Tratamento de Esgoto, como uma forma sustentável do aproveitamento de águas residuais. Tal objetivo impõe modificações profundas nas configurações, nas rotinas de operação e de manutenção das Estações de Tratamento de Esgoto, o que implica em um Projeto de caráter multidisciplinar.

A proposta do atual pesquisa trabalhou com a hipótese que é possível otimizar o cultivo de microalgas em efluente do sistema de tratamento anaeróbio de esgoto

através da inserção de CO₂ no sistema de cultivo, para produção de biomassa algácea mista e de isolados de microalgas adaptadas às condições físico-químicas do efluente de UASB. Paralelamente, foi realizada a construção e análise operacional de um fotobiorreator tubular plástico semi-fechado (FBR-TPSF), em escala piloto, para produção de biomassa microalgácea em efluentes de UASB.

Para tanto, os experimentos foram planejados em três fases que resultaram em três artigos científicos, sendo elas: **I)** Isolamento, sobrevivência e caracterização da biomassa de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto sanitário visando a produção de biocombustíveis; **II)** Potencial de crescimento de biomassa microalgácea em efluente de tratamento de esgoto sanitário com inserção de diferentes fontes de CO₂ e **III)** Cultivo de microalgas em efluente de UASB em um fotobiorreator tubular plástico semi-fechado visando à produção de biomassa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Promover a produção de biomassa de microalgas cultivadas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário em reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*).

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Isolar, identificar e caracterizar microalgas de efluente de sistema de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário;
- ✓ Avaliar o efeito da inserção de diferentes fontes de CO₂ no cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário de um reator tipo UASB;
- ✓ Projetar, construir e avaliar condições operacionais de um Fotobiorreator Tubular Plástico Semi-Fechado (FBR-TPSF) em escala piloto, para promover o crescimento de microalgas em efluente de um reator tipo UASB;
- ✓ Caracterizar o perfil bioquímico da biomassa microalgácea obtida pelo cultivo em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto;
- ✓ Avaliar a redução de teores de nutrientes, principalmente nitrogênio (N) e fósforo (P) após o cultivo e remoção da biomassa microalgácea em efluente de UASB.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Esgoto sanitário e o tratamento anaeróbio

A produção de esgoto *per capita* é um parâmetro extremamente variável, dependendo de diversos fatores, tais como, a renda familiar e a localidade. Sendo a produção de esgoto, em média de 200 L/hab.dia (Araujo, 2003). As características físico-químicas dos esgotos sanitários também variam em função de diferentes fatores, por exemplo, a região e hábitos locais da população.

A composição média do esgoto sanitário é de 99,9% de água e apenas 0,1% de sólidos (Jordão, 1995; Braga, 2005), sendo que cerca de 75% desse sólidos, são constituídos de matéria orgânica (Nuvolari, 2003). Destacam-se entre os componentes que estão presentes: sólidos suspensos, compostos orgânicos, nutrientes (nitrogênio e fósforo), metais, sólidos dissolvidos, inorgânicos, sólidos inertes, sólidos grosseiros, compostos não biodegradáveis, organismos patogênicos e ocasionalmente, contaminantes tóxicos decorrentes de atividades industriais ou acidentais (Andrade Neto e Campos, 1999). Os grupos de substâncias orgânicas nos esgotos são constituídos principalmente por proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 50%), gorduras e óleos (10%) e ureia, surfactantes, fenóis, pesticidas, dentre outros (Jordão, 1995).

Dentre os sistemas biológicos de tratamento de esgoto, os Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors*), apresentam um grande avanço na aplicação da tecnologia anaeróbia para o tratamento direto de águas residuárias (Catunda e van Haandel, 1996; Chermicharo, 1997). Em pequenas e médias estações de tratamento, os reatores

UASB ocupam posição de destaque, devido a sua adaptação às condições climáticas adequadas, simplicidade operacional, pequena produção de lodo, possibilidade de recuperação da energia do biogás gerado e baixos custos (Lettinga *et al.*, 1980). O processo anaeróbio por meio de reatores de manta de lodo apresenta inúmeras vantagens em relação aos processos aeróbios convencionais, notadamente quando aplicado em locais de clima quente, como é o caso da maioria dos municípios brasileiros.

Embora o estabelecimento atual de um limite maior de $DBO_{5,20}$ e a flexibilização para teores de nitrogênio e fósforo para lançamento de efluentes de sistemas de tratamento de esgotos sanitários pela Resolução CONAMA 430/2011 (Brasil, 2011) (Tabela 1), para o atendimento dos padrões de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/05 (Brasil, 2005), em termos de DBO_5 (20 mg/L) e fosfatos (0,020 a 1 mg/L) torna-se necessária a utilização de tecnologias de tratamento mais sofisticadas.

Tabela 1 Padrões e/ou condições de lançamento de efluentes e sistemas de tratamento de esgotos sanitários segundo a Legislação Brasileira (adaptado de Brasil, 2011).

| Parâmetro | Valor limite ou condição - CONAMA 430/2011 |
|----------------------|---|
| pH | 5 – 9 |
| $DBO_{5,20}$ | Máximo de 120 mg/L, sendo que este limite somente poderá ser ultrapassado no caso de efluente de sistema de tratamento com eficiência de remoção mínima de 60% de DBO, ou mediante estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor. |
| Nitrogênio amoniacal | Não exigível o padrão de nitrogênio amoniacal. |
| Fósforo | O órgão ambiental competente poderá definir padrões específicos para o parâmetro fósforo no caso de lançamento de efluentes em corpos receptores com registro histórico de floração de cianobactérias, em trechos em que ocorra a captação para abastecimento público. |

Como exemplo de pós-tratamento para o efluente do UASB, podemos citar as lagoas de polimento, que figuram como a tecnologia favorável e de baixo índice de mecanização. Tem como principal objetivo a remoção complementar da carga orgânica, podendo acrescentar, em alguns momentos, a remoção de nutrientes e patógenos (Cavalcanti *et al.*, 2001). Embora muito eficiente na remoção de matéria orgânica, os sistemas UASB associados a lagoas de polimento podem apresentar elevada concentração de sólidos em suspensão, ocasionada pela expressiva presença de microalgas no efluente final. Além disso, a esperada remoção de nutrientes pode não ocorrer na prática (Tabela 2), uma vez que médias diárias de pH superiores a 9 não são facilmente atingidas.

Tabela 2 Composição dos esgotos em etapas do tratamento por reatores anaeróbios e lagoas de polimento (Cavalcanti *et al.*, 2001).

| Parâmetro | Unidade | Esgoto | | |
|-----------------------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | | Bruto | Efluente do reator anaeróbio | Efluente da lagoa de polimento |
| DQO | mg/L | 500 – 800 | 150 - 200 | 60 – 120 |
| DBO ₅ | mg/L | 200 – 350 | 50 - 100 | 30 – 50 |
| SST | mg/L | 300 – 400 | 60 - 120 | 40 – 80 |
| NTK | mg N/L | 35 – 50 | 30 – 45 | 10 – 40 |
| P | mg P/L | 6 – 10 | 6 – 10 | 5 – 8 |
| Coliformes fecais | CF/100mL | 10 ⁷ - 10 ⁹ | 10 ⁶ - 10 ⁸ | 10 ² - 10 ⁴ |
| Ovos de helmintos | Nº/L | 10 – 200 | 5 – 50 | ≈0 |
| pH | | 7,0 - 8,0 | 6,8 - 7,2 | 7,5 – 9,0 |
| Sólidos sedimentáveis | mL/L | 10 – 20 | 1 – 2 | ≈0,1 |

Em Estações de Tratamento de Esgoto, as microalgas desempenham papel importante em lagoas facultativas por fornecer oxigênio para as bactérias decompositoras de matéria orgânica. Porém, segundo Cavalcanti *et al.* (2001), este oxigênio, em geral, não é utilizado para oxidação de material celular das algas, mas,

sim, para oxidar o material orgânico de natureza fecal presente no esgoto. Assim, o resultado é a transformação de material orgânico fecal em massa de algas. Estes processos afetam diretamente parâmetros importantes, como a concentração de oxigênio dissolvido (OD), dióxido de carbono (CO_2), demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), demanda química de oxigênio (DQO), sólidos em suspensão (SS) e pH, enquanto outros são afetados indiretamente, como a alcalinidade e a concentração dos nutrientes nitrogênio (N) e fósforo (P).

No entanto, o pH varia ao longo do dia conforme a variação da concentração de oxigênio dissolvido, pois quando a fotossíntese é mais acentuada, a concentração de oxigênio dissolvido no efluente aumenta, a remoção de CO_2 da massa líquida supera sua reposição pelas bactérias heterotróficas e, dessa forma, os íons bicarbonato presentes se dissociam, produzindo CO_2 e OH^- e elevando o pH. Com a redução da luminosidade durante a noite, a fotossíntese é limitada, há redução do pH e da concentração de oxigênio dissolvido no efluente. Durante o período de pH elevado ocorre a remoção de nutrientes por processos físicos e químicos. O nitrogênio pode ser removido fisicamente da fase líquida por dessorção, através do desprendimento de gás amônia, NH_3 , que é a forma nitrogenada predominante em valores elevados de pH.

Segundo Cavalcanti *et al.* (2001) uma remoção significativa de fósforo é possível mediante a precipitação de sais insolúveis de fosfato, tais como a apatita ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) e a estruvita ($\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$). Para tanto, é necessário que haja, além da presença do íon PO_4^{-3} , que só aparece em concentrações significativas quando a concentração de fósforo é elevada, a presença dos íons de cálcio ou magnésio.

A movimentação e estratificação das algas em lagoas facultativas são influenciadas pela temperatura e pela luminosidade, fatores que variam muito ao longo do dia (König, 1998). A eficiência na remoção da DBO depende também entre outros fatores do tempo de detenção hidráulica (Equação 1) na lagoa.

$$\theta_h = \frac{V_r}{Q} \quad \text{Equação (1)}$$

Em que:

θ_h = tempo de detenção hidráulica (dias);

V_r = volume total das lagoas (m^3);

Q = vazão de esgotos/efluente ($m^3 \cdot d^{-1}$).

De acordo com von Sperling (1996), um dos parâmetros importantes na projeção de lagoas facultativas é a taxa de aplicação superficial, pois deve garantir uma determinada área de exposição à luz solar, para que haja fotossíntese e o crescimento das algas. No entanto a grande quantidade de algas nas lagoas facultativas constituem-se em significativa fonte de nitrogênio e fósforo sob formas orgânicas no efluente deste tipo de processo (Tsalkatidou *et al.*, 2009; Torrens, 2009) e a presença de cianobactérias são preocupantes devido a possibilidade de produção de toxinas, após o lançamento destes efluentes em córregos, rios e lagoas que servem de mananciais de água para sistemas de abastecimento.

A concentração de algas em lagoas depende da quantidade de nutrientes, temperatura e luminosidade, mas usualmente está na faixa de 500 a 2000 $\mu g/L$ de clorofila-a, segundo Mara (1987) citado por Abdel-Raouf *et al.* (2012). E a diversidade e biomassa de microalgas sofrem grande influência da carga orgânica da lagoa de tratamento e variam em função da estação do ano, do clima, da latitude e da qualidade do esgoto.

No que se refere à comunidade fitoplanctônica no efluente da lagoa de alta taxa, foram identificados por Cruz (2005), 12 táxons de Chlorophyceae (*Ankistrodesmus* sp; *Chlamydomonas* Snowii Printz; *Chlamydomonas* globosa Snow; *Chlorella vulgaris* Beijerinck; *Chlorococcales* sp¹; *Chlorococcales* sp²; *Crucigenia quadrata* Morren; *Keratococcus mucicola* (Hust.) Hind.; *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Brébisson; *Scenedesmus ovalternus* Chodat; *Schroederia setigera* (Schröder) Lemmenmann e *Selenastrum minutum* (Naeg.) Collins); 7 táxons de Cyanophyceae (*Anabaena* sp; *Aphanothece* sp; *Merismopedia punctata* Meyen; *Lyngbia* sp; *Oscillatoria* sp; *Spirulina major* Kutzing e *Synechocystis cf aquatilis* Sauvageau), 2 táxons de Euglenophyceae (*Euglena* sp¹ e *Euglena* sp²) e 1 táxon de Bacillariophyceae (*Navicula* sp).

A denominada eutrofização é caracterizada pela elevada concentração de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo nos ecossistemas aquáticos, capaz de aumentar significativamente a produtividade primária do corpo hídrico (Tomaz, 2006), em virtude de processos naturais e artificiais. Isto reduz a qualidade das águas, provoca sérios problemas no seu uso, principalmente, para o abastecimento público (Chorus e Bartram, 1999) e pode culminar em efeitos nocivos para a biota ou mesmo para o homem, especialmente quando predominar espécies que produzem ficotoxinas.

Geralmente o fósforo é o elemento chave para o crescimento de algas. Em águas naturais o fósforo ocorre principalmente nas formas de ortofosfatos, polifosfatos e fosfatos organicamente. A intensificação das atividades humanas, tais como, o uso de fertilizantes agrícolas, despejos industriais e os lançamentos de efluentes domésticos têm promovido a eutrofização de corpos d'água (Sirqueira e Oliveira-Filho, 2005; Smith e Schindler, 2009).

A exigência de padrões de qualidade de efluentes cada vez mais restritivos em vários locais no mundo impõe a necessidade de polimento no efluente de lagoas de estabilização facultativas, principalmente no que diz respeito à remoção de nutrientes e algas (Middlebrooks apud Oliveira e Gonçalves, 1999). Há também atualmente, o interesse estratégico na recuperação da biomassa algácea produzida na lagoa, tendo como foco a sua valorização energética através da produção de biogás, biodiesel ou outros combustíveis (Park *et al.*, 2011; Schenk *et al.*, 2008).

Diferentes métodos podem ser utilizados para a remoção da biomassa algácea em sistema de tratamento. Os processos convencionais para remoção das microalgas de tanques, lagoas e reatores incluem concentração por centrifugação, fracionamento por espumas, floculação, filtração por membrana, separação ultrassônica (Demirbas, 2011). Nesse contexto, a adição de coagulantes inorgânicos, seguida da separação das fases sólido-líquido por meio de processos de sedimentação (Grima *et al.*, 2003; Harun *et al.*, 2010), apresenta-se como técnica que vem sendo aplicada em diversos países do mundo, inclusive no Brasil (Silva, 2003).

3.2. Microalgas e sua importância econômica e ambiental

Microalgas são microrganismos que se desenvolvem em diferentes ambientes (Bicudo, 2005). A maioria das microalgas tem hábito planctônico, embora também haja muitas espécies bentônicas e terrestres (habitando ambientes úmidos). Segundo Lourenço (2006) os termos “fitoplâncton” e “microalgas” são sinônimos. Tecnicamente o termo microalgas não inclui as cianobactérias, devido a sua natureza procarionte. No entanto, as cianobactérias comumente estão incluídas no termo “microalgas”, por apresentarem características em comum, entre elas, a

presença de cloroplastos, portanto atividade fotossintética (Larkum *et al.*, 2012) e por desempenharem o mesmo papel ecológico. Uma mesma espécie de microalgas pode apresentar perfil de crescimento distinto, de acordo com as condições de cultivo empregadas.

As microalgas são organismos capazes de converter a energia luminosa e gás carbônico em biomassa com compostos orgânicos diversificados (Tabela 3), tais como proteínas, carboidratos, lipídios e pigmentos em curto período de tempo (Brennan e Owende, 2010) e ainda, contribuir para retirada de CO₂ atmosférico (Schenk *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2010; Dermirbas, 2011; Rawat *et al.*, 2011) ou mesmo o aproveitamento de CO₂ de queima (Benemann, 1997; Borkenstein, 2011).

Tabela 3 Composição química de diferentes microalgas (Becker, 1994).

| Espécie | % em massa seca | | | |
|----------------------------------|-----------------|--------------|----------|------------------|
| | Proteínas | Carboidratos | Lipídios | Ácidos Nucleicos |
| <i>Scenedesmus obliquus</i> | 50-56 | 10-17 | 12-14 | 3-6 |
| <i>Scenedesmus quadricauda</i> | 47 | - | 1.9 | - |
| <i>Scenedesmus dimorphus</i> | 8-18 | 21-52 | 16-40 | - |
| <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 48 | 17 | 21 | - |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51-58 | 12-17 | 14-22 | 4-5 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 57 | 26 | 2 | - |
| <i>Spirogyra sp.</i> | 6-20 | 33-64 | 11-21 | - |
| <i>Dunaliella bioculata</i> | 49 | 4 | 8 | - |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 32 | 6 | - |
| <i>Euglena gracilis</i> | 39-61 | 14-18 | 14-20 | - |
| <i>Prymnesium parvum</i> | 28-45 | 25-33 | 22-38 | 1-2 |
| <i>Tetraselmis maculata</i> | 52 | 15 | 3 | - |
| <i>Porphyridium cruentum</i> | 28-39 | 40-57 | 9-14 | - |
| <i>Spirulina platensis</i> | 46-63 | 8-14 | 4-9 | 2-5 |
| <i>Spirulina máxima</i> | 60-71 | 13-16 | 6-7 | 3-4,5 |
| <i>Synechococcus sp.</i> | 63 | 15 | 11 | 5 |
| <i>Anabaena cylindrica</i> | 43-56 | 25-30 | 4-7 | - |

Esta biomassa que pode ser empregada nos mais diferentes processos da engenharia química, ambiental e agrônômica (Borowitzka, 1999), e podendo ser aproveitada como uma fonte renovável de energia (Wang e Lan, 2011). Segundo

Bahadar e Khan (2013), sob condições normais, as microalgas produzem um valor calórico de 18 a 21 kJ/g.d.

O cultivo de microalgas também tem notável aplicação para produção de biomassa visando a alimentação de animais de interesse comercial, destacando-se a utilização na aquicultura. Microalgas como as cianobactérias *Aphanizomenon* e *Arthrospira* (=Spirulina), as algas verdes *Chlorella*, *Dunaniela* e *Scenedesmus*, por apresentarem alto valor nutritivo, já são cultivadas em larga escala destinada para produção de suplementos alimentares para o homem, na forma de pílulas, encapsulados ou adicionados a massas, biscoitos, doces e bebidas. Além da produção para aproveitamento de pigmentos de alto valor agregado, como os carotenoides, β -caroteno e a astaxantina (Lourenço, 2006).

3.3 Isolamento e identificação de microalgas

A elucidação das diferentes respostas e comportamentos entre as espécies de microalgas normalmente requer a realização de experimentos controlados, nos quais cada espécie-alvo geralmente deve ser separada das demais (Preisig e Andersen, 2005). Andersen e Kawachi (2005) descrevem os métodos padrões de isolamento de microalgas que resumidamente são: culturas enriquecidas seletivas, micropipetagem, esgotamento por estria em placa com meio-agar; técnica *pour plates* em meio-agar; técnica da pulverização de células; arraste em meio-agar; técnica da diluição; separação gravimétrica e uso de fototaxis. Guillard (2005) acrescenta como técnicas de purificação de microalgas: peneiramento ou filtração por tamanho seletivo, e também segundo Mutanda *et al.* (2011) a adição de antibióticos. A manutenção das culturas de microalgas é realizada basicamente pela

constante renovação do meio através da transferência de colônias em cultivo com meio-agar ou transferência de pequenos volumes em meio de cultivo líquido (Lorenz *et al.*, 2005).

A identificação das microalgas é realizada principalmente através da observação de sua morfologia utilizando-se o microscópio, pigmentos fotossintetizantes acessórios, produtos de reserva e substâncias constituintes da parede celular. Tradicionalmente, as algas têm sido classificadas utilizando-se o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (CINB), com nomenclatura que segue o Código de Saint Louis (Lourenço, 2006). A evolução das algas e o estabelecimento de relações filogenéticas entre os grupos modernos desses organismos ainda são temas extremamente controversos e sujeitos a diferentes interpretações.

3.4 Cultivo de microalgas

As microalgas são organismos com exigência simples para crescimento, mas uma mesma espécie de microalga pode apresentar perfil de crescimento distinto, de acordo com as condições de cultivo empregadas. Porém, o número de algas cultivadas ainda é menos de 10% das cerca de 40.000 espécies conhecidas. Novas tentativas de formulações são necessárias para se estabelecer meios de cultivo viáveis para espécies ainda não cultiváveis e isto deve ser baseado na característica química de seu habitat e de exigências nutricionais específicas (Watanabe, 2005).

3.4.1 Nutrientes

O meio de cultivo para microalgas é composto basicamente por três componentes: macronutrientes, elementos traços e vitaminas.

Os principais macronutrientes são nitrogênio e fósforo, e silício requerido apenas por diatomáceas, silicoflagelados e algumas crisófitas (Harrison e Berges, 2005) e os íons principais Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Cl^{-1} e SO_4^{-2} . Segundo Sunda *et al.* (2005), os macronutrientes são acrescentados em quantidades relativamente altas, pois apresentam baixa toxicidade.

Entre os elementos traços destacam-se os metais, tais como ferro, manganês, cobre, zinco, cobalto e molibdênio. O metalóide selênio aparece em algumas composições de meio e o cádmio pode substituir o zinco no cultivo de algumas espécies. Embora acrescentados ao meio em quantidades pequenas, os micronutrientes são essenciais para o crescimento, pois desempenham papel crítico em diversas rotas metabólicas que envolvem a utilização de fontes essenciais (luz, nitrogênio, fósforo e CO_2) e sua ausência pode ser fator limitante. Entretanto, são tóxicos quando presentes em quantidades maiores (Sunda *et al.*, 2005).

As vitaminas mais usuais para cultivo de microalgas são: vitamina B₁ (tiamina-HCl), vitamina B₁₂ (cianocobalamina) e a vitamina H (biotina).

Em cultivos especializados geralmente adicionam-se fertilizantes aos cultivos (Molina *et al.*, 2001). Segundo Chisti (2007), o requerimento nutricional pode ser estimado usando a fórmula molecular aproximada de biomassa microalgácea, que é $\text{CO}_{0,48}\text{H}_{1,83}\text{N}_{0,11}\text{P}_{0,01}$. Já Fortier e Sturm (2012), citam que a biomassa microalgácea tem composição típica de $\text{C}_{106}\text{H}_{181}\text{O}_{45}\text{N}_{16}\text{P}$, portanto, exigência com relação 16N:1P (Craggs, 2005). Contudo a relação N:P na biomassa algácea pode variar de 4:1 para quase 40:1, dependendo da espécie e da disponibilidade de nutrientes. Sob condições adequadas, uma alta produtividade pode ser alcançada mesmo em relações N:P relativamente baixas (Park *et al.*, 2011). Por outro lado, estudos tem

mostrado que a limitação de nitrogênio reduz o crescimento, mas por vezes estimula a produção de lipídios nas microalgas (Chisti, 2008).

3.4.2 Temperatura e pH

Segundo Lourenço (2006), a temperatura é um dos fatores que mais afeta a taxa metabólica dos organismos. Para cultivo de microalgas de espécies tropicais a temperatura deve permanecer em torno de 20 a 30 °C. Kumar *et al.* (2010) citam valores máximos de densidade celular com temperaturas entre 15 a 26 °C. E resultados de pesquisas de Moheimani e Borowitzka (2007), mostraram que o crescimento da microalga *Pleurochrysis carterae*, foi inibido pela alta concentração de O₂ durante o dia no cultivo em fotobiorreator tipo *raceway* e que esta inibição aumenta com o aumento de temperatura.

O pH favorável para o cultivo da maioria das microalgas é sempre próximo da neutralidade, pH=7. Em sistemas de cultivos de microalgas com fotoperíodo claro/escuro, se observa um aumento de pH durante o período claro e posterior redução no pH na fase escura. O aumento do pH deve-se as baixas concentrações dos íons carbonato e bicarbonato, e como consequência ocasiona efeitos na forma química dos elementos traços, tais como a complexação dos metais por ligantes inorgânicos (CO₃⁻² ou OH⁻¹) e aumento da afinidade efetiva dos quelantes orgânicos devido a redução do íon H⁺. Este aumento de pH pode ser benéfico pela inativação de patógenos em tratamentos biológicos de esgoto, mas também pode inibir o crescimento das microalgas (Kumar *et al.*, 2010). A injeção de gás carbônico ajuda a controlar o pH.

3.4.3 Luminosidade e fonte de carbono

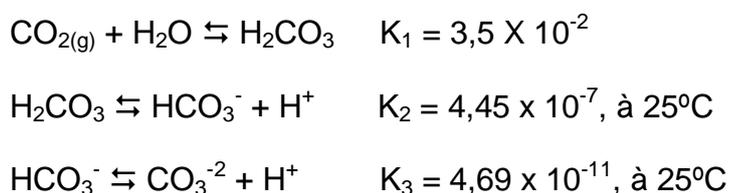
Microalgas são microrganismos fotossintetizantes, portanto, dotados de clorofila-a. Entretanto algumas microalgas, denominadas mixotróficas, são capazes de crescer normalmente no escuro (Miao e Wu, 2006) desde que lhes sejam fornecidas substâncias químicas de alto teor energético e facilmente metabolizáveis (quimiossíntese), como os carboidratos, ácidos graxos e acetatos. Outras são capazes de assimilar seu alimento sob forma líquida (osmose) através da membrana celular ou de partículas (fagocitose) em vacúolos dentro da célula, à maneira dos protozoários (Bicudo, 2005).

Huang (2010) cita que a *Chlorella protothecoides* pode crescer fotoautotoficamente ou heterotoficamente, porém em crescimento heterotrófico usando acetato, glicose ou outros compostos orgânicos como fonte de carbono, resulta em maior biomassa e também compostos lipídicos na célula. Liu *et al.* (2011) registraram o crescimento de *C. zofingiensis* em cultura heterotrófica apresentando resultados de taxa de crescimento de $0,769 \text{ d}^{-1}$ e produção de biomassa de 9,7 g/L, cerca 227% e 411% maior que o cultivo fotoautotófico, respectivamente. Chisti (2007) menciona que o crescimento heterotrófico não seria muito eficiente, pois requer fonte de carbono, que em última instância decorrem de plantas fotossintéticas.

No entanto, o crescimento fotoautotrófico não necessita de fonte de carbono orgânico, o que implicaria na necessidade de outra fonte oriunda de produtores de compostos orgânicos. A principal fonte de carbono para o crescimento das microalgas é o gás carbônico (CO_2). Segundo Esteves (1998), em meio aquoso o carbono inorgânico pode estar na forma de CO_2 , H_2CO_3 (ácido carbônico), HCO_3^- (bicarbonato) ou CO_3^{2-} (carbonato). E suas proporções dependem do pH, sendo que,

conforme o aumento do pH (alcalinização) as proporções bicarbonatos e carbonatos aumentam no meio de cultura. Assim, numa cultura com pH ácido ocorre uma maior disponibilidade de CO₂, sendo esta, a fonte de carbono preferida pelas microalgas.

O equilíbrio químico em solução aquosa destas espécies químicas apresentam as seguintes constantes para cada fase (Sawyer *et al.*, 2003):



Estas espécies químicas em meio aquoso podem ser consideradas como fontes de carbono para as microalgas. A solubilidade de substâncias que podem ser utilizadas como fonte de CO₂ devem ser consideradas. A solubilidade em água, à 20 °C, do CO₂ é de 0,17 g/L; NaHCO₃ é de 96 g/L e do CaCO₃ é de 0,014 g/L (20 °C) (MERCK, 2010). O bicarbonato de sódio é amplamente comercializado e com boa solubilidade e segundo Cho *et al.* (2011), pode ser utilizado como fonte complementar de fonte de carbono. Já o carbonato de cálcio é resíduo de algumas indústrias, porém apresenta baixa solubilidade.

As microalgas necessitam de 1,8 a 2,0 kg de CO₂ para formar 1 kg de biomassa (Chisti, 2007). Considerando-se esta relação estequiométrica, a quantidade de CO₂ presente no ar (0,003%) não é suficiente para promover a necessária pressão de gás nas culturas, para propiciar uma absorção de CO₂, capaz de gerar alta produtividade. Assim, os cultivos de microalgas pressupõem uma oferta mínima de 2,0 a 2,5 %v/v de CO₂ injetado no cultivo (Santos, 2012). Estudos realizados por Ge *et al.* (2011) mostraram que as microalgas podem absorver até 15% de CO₂ do ar injetado nos cultivos, indicando a possibilidade de aproveitamento de ar da queima

de indústrias, que tem em média 5,0 %v/v, podendo chegar até 20% de CO₂, dependendo da tecnologia e do tipo de combustível utilizado. Além disto, podemos também relacionar a conversão do CO₂ da queima do biogás de reatores anaeróbios tipo UASB, em biomassa microalgácea, contribuindo assim para a atenuação das emissões deste gás.

Estudos realizados por Godos *et al.* (2010), com a adição de 5,5 L/min de gás enriquecido com 7% CO₂ em uma lagoa de alta taxa, resultou no aumento de 30% da concentração de biomassa algácea. Em estudo similar realizado por Park *et al.* (2011), a adição de CO₂ resultou em aumento superior a 30% na produção de biomassa e a manutenção do pH<8 reduziu a perda de nitrogênio na forma de amônia.

Um suplemento suficiente de CO₂, além de nitrogênio e fósforo, é um dos fatores chave no crescimento autotrófico de microalgas, com aumento de produtividade de biomassa e conteúdo de proteína, e indiretamente sob condições de *stress* no aumento do acúmulo de carboidratos (Chen *et al.*, 2013).

Cho *et al.* (2011), observaram o crescimento gradativo de *Chlorella* sp. 227, cultivada em efluente de tratamento de esgoto sanitário com diferentes tipos de pré-tratamentos e com adição de 250 mM de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) como fonte de carbono. Eles concluíram que o efluente apresenta componentes disponíveis necessários para o crescimento de microalgas, sem adição externa de nutrientes. Jiang *et al.* (2011) cultivaram a microalga marinha *Nannochloropsis* sp. na mistura de esgoto urbano e água marinha na proporção de 1:1, e obtiveram um aumento concentração de biomassa de 0,39 g/L para 1,43 g/L quando injetou 15% de CO₂ no cultivo.

Alguns fatores caracterizam desvantagens ao crescimento fotoautotrófico, como por exemplo, o fato de se tornar lento por causa da limitação da luz em altas densidades de células para produção em larga escala e a fotoinibição devido ao excesso de luz, em especial em dias de verão. Ainda segundo Chisti (2007) cerca de 25% da biomassa produzida durante o dia é perdida durante a noite devido a alta taxa de respiração. Estudos em laboratório, realizados por Qin (2005), com *Botryococcus braunii*, não mostraram diferença significativa entre cultivos com 12 e 24h de luz diárias, porém, fotoperíodos de 4 e 8h não sustentaram o crescimento das microalgas.

Hulatt e Thomas (2011) encontraram durante o período de crescimento máximo no cultivo de *Chlorella vulgaris* e de *Dunaliella tertiolecta*, eficiência fotossintética de 3,5% e 7,4%, respectivamente.

3.4.4 Cultivo de microalgas em efluente de Estação de Tratamento de Esgotos (ETEs)

Nos últimos anos diversas pesquisas tem focado o cultivo de microalgas em efluentes de tratamento de esgoto. Esgotos sanitários urbanos contêm em média 50 g/m³ de nitrogênio, sendo que cada m³ pode contribuir para a formação de 0,5 kg de biomassa para extração de biocombustível. De acordo com Peccia *et al.* (2013), a quantidade de nitrogênio, tipicamente presente em efluentes de tratamento de esgotos, 15 a 20 mg/L, estequiometricamente daria suporte à produção de microalgas de 0,2 g/L, o que é abaixo do ideal quando cultivado em condições com suplemento de nutrientes, que é em torno de 2 a 10 g/L. Esta falta de nitrogênio poderia ser suprida pelo aproveitamento de N disponível na biomassa de microalgas digerida por processos anaeróbios, após a extração de triacilgliceróis (TAG).

Li *et al.* (2011) em experimentos cultivaram *Chlorella* sp. em reator circular, em escala de bancada, contendo esgoto filtrado, em operação contínua com colheita diária e taxa de reposição de 50% e observaram a produtividade de 0,92g de microalga/L.dia. Ainda neste experimento o teor de ácido graxo metil-ester foi de 11,04% e quando cultivado em batelada foi encontrado a remoção de 93,9% de amônia, 89,1% de nitrogênio total, 80,1% de fósforo total e 90,8% de DQO. A remoção de nitrogênio e fósforo no tratamento terciário de esgoto também foi estudada por Martínez *et al.* (2000), que utilizaram *Scenedesmus obliquus* e resultou na remoção de 100% de amônia e 98% de fósforo.

Porém, a presença de protozoários, rotíferos, insetos, fungos e vírus reduzem a produtividade de biomassa. Segundo Park *et al.* (2011) em lagoas de alta taxa, estes predadores e contaminantes podem reduzir a biomassa algácea em até 90%. Abdel-Raouf *et al.* (2012) afirmaram que o cultivo de microalgas em sistemas de tratamento de esgoto inibiu coliformes e removeu metais pesados. Segundo Marin *et al.*, a remoção de coliformes fecais pode alcançar valores de até 95%.

3.5 Fotobiorreatores (FBRs)

O cultivo fotoautotrófico de microalgas pode ser realizado em larga escala através de fotobiorreatores abertos (p.e. modelo raceway) ou em fotobiorreatores fechados (Lam e Lee, 2012; Razzak *et al.*, 2013). Embora, cerca de 98% da produção de biomassa algácea comercial ocorra em tanques abertos (Benemann, 2008), os fotobiorreatores fechados são os mais viáveis para algumas microalgas que são facilmente contaminadas por microrganismos, pois eles apresentam maior eficiência, maior produtividade de biomassa, menores tempos de colheitas, alta taxa

superfície/volume e podem ser utilizados para cultivar um maior número de microalgas do que em sistemas abertos (Chisti, 2007).

Entretanto nos cultivos em tanques abertos, os custos são menores que os fotobiorreatores fechados (Harun *et al.*, 2010; Huang, 2010). As vantagens e desvantagens de diferentes modelos de FBRs abertos e fechados, estão resumidos na tabela 4.

Tabela 4 Vantagens e desvantagens de diferentes fotobiorreatores utilizados para cultivo de microalgas (Bahadar e Khan, 2013).

| Tipo de fotobiorreator | Vantagens | Desvantagens |
|---|---|--|
| Tubular | Uso efetivo da luz; controle excelente de temperatura; ampliação razoável. | Adesão de alguns cultivos nas paredes. |
| Vertical | Densidade celular e produtividade muito alta. | Requer muitos compartimentos e material de suporte. |
| Tubular plana com cobertura de lente 'fresnel'. | Absorção da luz mais oblíqua da fonte de luz. | Difícil controle de temperatura; possibilidade de <i>stress</i> hidrodinâmico para algumas espécies. |
| Tubular helicoidal | Grande área superficial. | Alto custo para aquecimento e iluminação. |
| Tubular com 'elevação de ar' | Capacidade para larga escala, fácil suplemento de CO ₂ . | Complexidade; dificuldade para ampliar. |
| Membrana de múltiplos 'injetores de ar' | Controle total sobre a entrada de ar e circulação de líquidos; produção de metabólitos. | Alto custo de produção. |
| Cúbicos | Alta concentração celular; incidência efetiva total de luz. | Dependendo da profundidade do reator, pode haver pontos escuros no centro. |
| Projeção de tubo agitado | Combinação de tanque e plana agitados; condição constante de luminosidade. | Alto custo no cultivo. |
| Tanque agitado | Mistura largamente uniforme; controle de temperatura excelente. | Dificuldade para ampliar; <i>stress</i> hidrodinâmico em algas. |
| 'Air lift' | Boa utilização da luz; bom controle de temperatura; alto coeficiente de transferência de massa. | Baixo <i>stress</i> hidrodinâmico em algas; dificuldades para ampliar. |
| Placa plana | Controle de temperatura e luminosidade; alto coeficiente de transferência de gás. | Dificuldade para ampliar. |
| Tubular com coluna de bolha | Ampliável; ambiente homogêneo de cultivo; requer baixo resfriamento; uso efetivo da luz. | Baixa taxa superfície/volume. |
| Cascata modificada | Uso efetivo da luz; alto coeficiente de transferência de massa. | Aumento da colisão por bombas pode limitar a produtividade. |

A eficiência do cultivo é altamente dependente da otimização do fluxo e das trocas gasosas, e a geometria do fotobiorreator pode também maximizar a área de iluminação. A produtividade volumétrica reduz com o aumento do diâmetro, enquanto a produtividade por área aumenta com o volume. A estimativa de máxima produtividade por área e volumétrica, para cultivo de *Phaeodactylum tricornutum*, foi de 35 g/m².d e 1,5 g/L.d, respectivamente, com a utilização de tubos com 0,06 m de diâmetro em um fotobiorreator tubular (Molina *et al.*, 2001).

Estudos realizados para produção de lipídios utilizou *C. vulgaris* e água residuária sintética em manejo de batelada ou semi-contínuo em um reator de coluna aerado. A produção máxima foi de 42% de lipídio com produtividade de biomassa de 147 mg/L.d quando utilizou-se o processo semi-contínuo com taxa de substituição diária (Feng *et al.*, 2011).

Ketheesan e Nirmalakandan (2011), obtiveram uma produtividade de biomassa de $0,16 \pm 0,03$ gMS/L.d no cultivo de *Scenedesmus* sp., em um reator “airlift-driven raceway” com meio base de Bold sob luz fluorescente e temperatura ambiente. E Arbib *et al.* (2013) registraram que sob as mesmas condições obtiveram de 2 a 2,5 vezes mais eficiência fotossintética em um reator tubular que em lagoa de alta taxa no cultivo *Scenedesmus obliquus* em efluente de ETE.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIAN, A.A.; IBRAHEEM, I.B.M. Microalgae and wastewater treatment **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2012. v.19, p.257–275.

ANDERSEN, R.A.; KAWACHI, M. Traditional microalgae isolation techniques. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. 2005. cap.6, p.83-100.

ANDRADE NETO, C.O.; CAMPOS, J.R. (1999). Capítulo 1: Introdução. In: CAMPOS, J. R. (coordenador). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1.ed. Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, 1999. p.1-28.

ARAUJO, R. **O esgoto sanitário**. In: Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola. Coord. NUVOLARI, A., São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. cap.2, p.15-36.

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

ASLAN, S.; KAPDAN, I.K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**. 2006. v.28, p.64-70.

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

BECKER, E.W. Oil production. In: **Microalgae: biotechnology and microbiology**. Ed. Baddiley, J. et al., Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York. 1994.

BENEMANN J.R. **Opportunities and challenges in algae biofuels production** - A Position Paper. by Dr. John R. Benemann in line with Algae World. 2008.

BENEMANN, J.R. CO₂ mitigation with microalgae systems. **Energy Conversion and Management**. 1997. v.38, suppl. p.S475-S479.

BICUDO, C.E. de M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil – chave para identificação e descrições**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2005. 489p.

BORKENSTEIN, C.G.; KNOBLECHNER, J.; FRÜHWIRTH, H.; SCHAGERL, M. Cultivation of *Chlorella emersonii* with flue gas derived from a cement plant. **Journal Applied Phycology**. 2011. v.23, p.131-135.

BOROWITZKA M.A. Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. In: Cohen Z, editor. **Chemicals from microalgae**. Taylor & Francis; 1999. p. 313–52.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L.; MIERZWA, J.C.; BARROS, M.T.L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. 2.ed., Prentice Hall, São Paulo, 2005. 318p.

BRASIL **Resolução CONAMA nº 357, de 17 março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da União. Brasília, 2005.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº430, de 13 de maio de 2011**. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da União. Brasília, 2011.

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

CATUNDA, P.F.C.; VAN HAANDEL, A.C. Improved performance and increased applicability of waste stabilization ponds by pretreatment in a UASB reactor. **Water Science and Technology**. 1996. v.33, n.7, p.147:156.

CAVALCANTI, P.F.F.; HAANDEL, A. van; KATO, M.T.; SPERLING, M. von; LUDUVICE, M.L.; MONTEGGIA, L.O. (2001). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbias por lagoas de polimento**. In: Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.), Projeto PROSAB, Belo Horizonte [s.n.]. cap. 3, p. 105-170.

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae-based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**. 2013. v.78, p.1-10.

CHERNICHARO, C.A.L. Reatores anaeróbios. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. DESA-UFMG, Belo Horizonte, 1997. v.5, 245p.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**. 2008. v.26(3), p.126-131.

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

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.8639-8645.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.) **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E & FN Spon. 1999. p.369-405.

CRAGGS, R.J. Advanced integrated wastewater ponds. In: SHILTON, A. (Ed.). **Pond Treatment Technology**. Londres: IWA Publishing, 2005. p.282–310.

CRUZ, L.S. Variação temporal das comunidades fitoplanctônicas em uma lagoa de polimento de efluente de um reator anaeróbio compartimentado tratando esgoto sanitário. 2005. **Dissertação de Mestrado** – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Univ. Federal do Espírito Santo. 173p.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2a ed. Inteligência, Rio de Janeiro, Brasil, 1998. 602p.

FENG, Y; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.101-105.

FORTIER, M.O.P.; STURM, B.S.M. Geographic analysis of the feasibility of collocating algal biomass production with wastewater treatment plants. **Environment Science & Technology**. 2012. v.46, p.11426-11434.

GE, Y.; LIU, J.; TIAN, G. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.130-134.

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

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

GUILLARD, R.R.L.. Purification methods for microalgae. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.8, p.117-132.

HARRISON, P.J.; BERGES, J.A. Marine Culture media. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.3, p.21-33.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G.M.; DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2010. v.14, p.1037-1047.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**. 2010. v.87, p.38-46.

HULATT, C. J.; THOMAS, D. N. P. Productivity, carbon dioxide uptake and net energy return of microalgal bubble column photobioreactors. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.5775-5787

JIANG, L.; LUO, S.; FAN, X.; YANG, Z., GUO, R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. **Applied Energy**. 2011. v.88, p.3336-3341.

JORDÃO, E.P. **Tratamento de esgotos domésticos**. 3.ed., Rio de Janeiro, ABES, 1995.

JORDÃO, E.P., PESSÔA, C.A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ed., Rio de Janeiro, 2005. 890p.

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

KÖNIG, A. **Aspectos Teóricos e Práticos sobre Algas e Parasitos Intestinais em Estação de Tratamento de Esgotos**. Fundação Ecosistemas do Espírito Santo, Vitória, 1998.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. Review. **Trends in Biotechnology**. 2010. v.28, p.371-380.

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

LAM, M.K.; LEE, K.T.; MOHAMED, A.R. Current Status and challenges on microalgae-based carbon capture. **International Journal of Greenhouse Gas Control**. 2012, v.10, p.456–469.

LARKUN, A.W.D.; ROSS, I.L.; KRUSE, O.; HANKAMER, B. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. Review. **Trends in Biotechnology**, 2012. v.30, n.4, p.198-205.

LETTINGA, G.; van VELSEN, F.M.; HOBMA, S.W.; ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) – reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**. 1980. v.22, n.4, p.699-734.

LI, Y.; YI-FENG, C.; CHEN, P.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B. Characterization of microalga *Chlorella* sp. Well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.5138-5144.

LIU, J.; HUANG, J.; SUN, Z.; ZHONG, Y.; JIANG, Y.; CHEN, F. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.106-110.

LOPES, E.J.; SCOPARO, C.H.G.; QUEIROZ, F.T.T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**. 2010. v.51, p.894-900.

LORENZ, M.; FRIEDL, T.; DAY, J.G. Perpetual maintenance of actively metabolizing microalgal cultures. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.10, p.145-156.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2006. 588p.

MARIN, A.R.; -ESPINOSA, L.G.M.; STEPHENSON, T. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. **Bioresource Technology**. 2010. v.101, p.58–64.

MERCK, **Catálogo Merck Millipore**. Darmstadt, Alemanha: Merck KGaA, 2010.

MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterothrophic microalgal oil. **Bioresource Technology**. 2006. v.97, p.841-846.

MOHEIMANI, N.R.; BOROWITZKA, M.A. Limits to productivity of the alga *Pleurochrosis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. **Biotechnology and Bioengineering**, 2007. v.96, Issue 1, p.27-36.

MOLINA, E.; FERNÁNDEZ, J.; ACIÉN, F.; CHISTI, Y. Tubular photobioreactor desing for algal cultures. **Journal of Biotechnology**. 2001. v.92, p.113-131.

MUTANDA, T.; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.57-70.

NUVOLARI, A. **Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. 520p.

OLIVEIRA, L.F.; GONÇALVES, R.F. Principais tecnologias empregadas no polimento do efluente de lagoas de estabilização. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, ABES. 1999. **Anais eletrônicos**.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J.; SHILTON, A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. 2010. **Bioresource Technology**. 2011. v.105, n.3, p.35-42.

PECCIA, J.; HAZNEDAROGLU, B.; GUTIERREZ, J.; ZIMMERMAN, J.B. Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. **Trends in Biotechnology**. 2013. v.31, p. 134-138.

PREISIG, H.R.; ANDERSEN, R.A. Historical review of algal culturing techniques. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal Culturing Techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.1, p.1-12.

QIN, J. Bio-hydrocarbons from algae. **Rural Industries Reserch and Development Corporation**. Australian Government. Fev/2005. n.5/025, 18p.

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

RAZZAK, S.A.; HOSSAIN, M.M.; LUCKY, R.A.; BASSI, A.S.; LASA, H. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2013. v.27, p.622-653.

RIBEIRO, L.A.; SILVA, P.P. Surveying Techno-economic indicators of microalgae biofuel technologies. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2013. v.25, p.89-96.

SANTOS, J.N. Potencial de fixação de CO₂ por microalgas como uma possível contribuição ao “desenvolvimento limpo”. **Dissertação**. Salvador: UFBA, 2012. 71p.

SAWYER, C.N.; McCARTY, P.L.; PARKIN, G.F. **Chemistry for environmental engineering and science**. 5 ed. Boston: McGraw-Hill. 2003. 752 p.

SCHENK, P.M.; STEPHENS, E.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research**. 2008. v.1, p.20-43.

SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**. 2008. v.87, p.2355–2373.

SILVA, M. Aplicação de lodo de estações de tratamento de água como coagulante no polimento final para remoção de fósforo em unidades de tratamento de esgoto. **Dissertação** - Programa Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos. Univ. de Brasília. 2003.

SIRQUEIRA, D.B.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. **Cianobactérias de águas doce e saúde pública: uma revisão**. Universitas Ciência da Saúde. 2005. v.3, n.1, p.109-127.

SMITH, V.H.; SCHINDLER, D.W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology and Evolution**. 2009. v.24, n.4, p.201-207.

SUNDA, W.G.; PRICE, N.M.; MOREL, F.M.M. Trace metal ion buffers and their use in culture studies. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.4, p.35-63.

TOMAZ, P. **Poluição difusa**. São Paulo: Editora Navegar. 2006. 446p.

TORRENS, J.C.L. Adaptação e otimização de uma unidade geradora para utilização de biodiesel de microalgas.. **Monografia (Graduação)**: Curso de Engenharia Mecânica. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009. 104p.

TSALKATIDOU, M.; GRATZIOU, M.; KOTSOVINOS, N. Combined stabilization ponds–constructed wetland system. **Desalination**, 2009. v.248, p.988-997.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: lagoas de estabilização**. v. 3, 3ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

WANG, B.; LAN, C.Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. **Bioresource Technology**, 2011. v.102, p.5639–5644.

WATANABE, M. Freshwater culture media. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.2, p.13-20.

ISOLAMENTO, SOBREVIVÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS CULTIVADAS EM EFLUENTE DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO VISANDO A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

RESUMO

Foram isolados de efluente de sistema de tratamento de esgoto, seis estirpes de microalgas verdes identificadas como *Desmodesmus* sp. L02; *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09. Foram cultivadas em efluente de UASB autoclavado (EFA) sob condições laboratoriais para determinação do potencial de sobrevivência do inoculado em efluente de UASB natural (EFN), para caracterização bioquímica da biomassa microalgácea e remoção de nutrientes em efluente de ETEs, principalmente fósforo e nitrogênio. Entre os isolados, a *Chlorella* sp. L06 apresentou percentual de sobrevivência em EFN maior que 90% durante os dez dias de cultivo, e destacou-se entre as demais microalgas. Por outro lado, o *Desmodesmus* sp. L02 apresentou o menor percentual, não ultrapassando 1,8% após 24 horas da inoculação. As biomassas secas dos isolados apresentaram em média 28,7% de proteínas totais, 15,4% de lipídios totais e 14,8% de carboidratos totais. O isolado *Chlorococcum* sp. L04 apresentou a média de carboidratos totais igual a 29,3%. Após a remoção da biomassa com adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio, observou-se a redução de 59,2% e 93% de nitrogênio e de 79,1 e 95,4% de fósforo no EFA pelos isolados *Desmodesmus* sp. L02 e *Tetradismus* sp. L09, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: biocombustíveis, biomassa, efluente, microalgas, tratamento de esgoto.

**ISOLATION, CHARACTERIZATION AND SURVIVAL OF BIOMASS
MICROALGAE CULTURED IN WASTEWATER TREATMENT TARGETING THE
PRODUCTION OF BIOFUELS**

ABSTRACT

Were isolated from effluent wastewater treatment system six strains of green microalgae identified as *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04, *Coccomyxa* sp. L05, *Chlorella* sp. L06, *Scenedesmus* sp. L08 and *Tetradesmus* sp. L09. They were culturing in autoclaved UASB effluent (EFA) under laboratory conditions to determine the survival potential of inoculated in natural UASB effluent (EFN) to biochemistry characterization the microalgal biomass and removal of nutrients in effluent treatment plants, mainly phosphorus and nitrogen. Among the isolated *Chlorella* sp. L06, presented the survival percent in EFN greater than 90% for ten days of culturing. On the other hand, *Desmodesmus* sp. L02 had the lowest percentage, not exceeding 1,8% after 24 hours of inoculation. Dried biomass of isolates showed average 28,7% total proteins, 15,4% total lipids and 14,8% of total carbohydrates. The isolate *Chlorococcum* sp. L04 showed a mean total carbohydrates equal to 29,3 %. After removal of biomass with addition of 250 mg/L of aluminum sulfate was observed removal 59,2% and 93% of nitrogen, and 79,1 and 95,4% phosphorus in EFA for isolated *Desmodesmus* sp. L02 and *Tetradesmus* sp . L09, respectively.

KEYWORDS: biofuels, biomass, effluent, microalgae, wastewater treatment.

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes, portanto, dotados de clorofila *a*. As microalgas são organismos com exigências nutricionais simples para crescimento, e podem produzir lipídios, proteínas e carboidratos, em curto período de tempo (Becker, 2004; Brennan e Owende, 2010). E ainda contribuir para a retirada de CO₂ atmosférico (Schenk *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2010; Dermirbas, 2011; Rawat *et al.*, 2011) ou de CO₂ de queima (Benemann, 1997; Borkenstein, 2011), e o que possibilita convertê-lo em fonte renovável de energia (Wang e Lan, 2011).

Porém, o número de microalgas cultivadas ainda é menos de 10% das cerca de 40.000 espécies conhecidas. Novas tentativas de formulações são necessárias para se estabelecer meios de cultivo viáveis para espécies ainda não cultiváveis e isto deve ser baseado na característica química de seu habitat e de exigências nutricionais específicas (Watanabe, 2005).

As microalgas estão presentes em sistemas aquáticos ou zonas úmidas, praticamente em todas as longitudes, latitudes e altitudes do globo (Bicudo, 2005; Larkum *et al.*, 2012). Eventualmente florações podem ocorrer e culminar em efeitos nocivos para a biota ou mesmo para o homem, especialmente quando predominar espécies que produzem ficotoxinas. A denominada eutrofização é caracterizada como o aumento da concentração de nutrientes, especificamente nitrogênio e fósforo nos ecossistemas aquáticos, capaz de aumentar significativamente a produtividade primária do corpo hídrico (Tomaz, 2006).

Os esgotos, particularmente aqueles contendo detergentes, efluentes industriais e fertilizantes, contribuem para o aumento da concentração de fósforo em corpos

d'água (Sirqueira e Oliveira-Filho, 2005; Smith e Schindler, 2009). A contribuição *per capita* de fósforo no esgoto sanitário, segundo von Sperling (2005) pode chegar a 2,5 g/hab.dia deste nutriente.

Em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), os fitoplanctons desempenham papel importante em lagoas facultativas por fornecer oxigênio para as bactérias decompositoras de matéria orgânica. Por outro lado, há a necessidade de remoção desta biomassa para evitar o favorecimento de eutrofização do corpo hídrico receptor.

As microalgas podem apresentar conteúdo de lipídios de 1% a 70% podendo alcançar 90% do peso seco sob determinadas condições de cultivo (Metting, 1996). Entre os fatores que influenciam no acúmulo de lipídios na célula de microalgas podemos citar a intensidade luminosa, temperatura e disponibilidade de nitrogênio (Yen *et al.*, 2013).

Os carboidratos podem ser encontrados nas microalgas na forma de amido, glicose, açúcares e outros polissacarídeos (Spolaore *et al.*, 2006). Segundo Chen *et al.* (2013) algumas estirpes de microalgas, tais como, *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas* e *Scenedesmus* podem acumular mais de 50% de amido baseado em seu peso seco, quando cultivado sob condições apropriadas, manipulando fatores como, fornecimento de luz, limitação de nutrientes, temperatura e suplementação de CO₂.

As vantagens do cultivo de microalgas como um recurso de biomassa são: a) microalgas são consideradas como um sistema biológico muito eficiente para transformação de energia luminosa em energia química na forma de compostos orgânicos (> 50%); b) apresentam elevada produtividade em mínima área superficial

ou volumétrica; c) muitas espécies de algas podem ser induzidas a produzir concentrações muito elevadas de compostos com valor comercial, tais como proteínas, carboidratos, lipídios e pigmentos; d) microalgas apresentam elevadas taxas de crescimento; e) o cultivo de microalgas pode ser realizado a partir de águas salinas, salobras e águas residuárias de esgotos sanitários ou industriais; f) sistemas de produção de biomassa microalgácea podem ser facilmente adaptados a diferentes níveis de competências operacionais ou tecnológicas e g) microalgas podem ser cultivadas em diferentes tipos de sistemas (Chisti, 2007).

Nos últimos anos diversas pesquisas tem focado o cultivo de microalgas em efluentes de tratamento de esgoto. Li *et al.* (2011) cultivaram *Chlorella* sp. em um reator circular em escala de bancada contendo esgoto filtrado, em operação contínua com coleta diária e taxa de reposição de 50% e observou a produtividade de microalgas de 0,92 gMS/L.dia. Neste experimento o teor de ácido graxo metil-ester foi de 11,04% e quando cultivado em batelada foi encontrada a remoção de 93,9% de amônia, 89,1% de nitrogênio total, 80,1% de fósforo total e 90,8% de DQO.

A remoção de nitrogênio e fósforo no tratamento terciário de esgoto foi estudada por Martínez *et al.* (2000), que utilizaram *Scenedesmus obliquus* e registraram a remoção de 100% de amônia e 98% de fósforo. Abdel-Raouf *et al.* (2012) afirmaram que o cultivo de microalgas em sistemas de tratamento de esgoto inibiu o crescimento de coliformes e removeu metais pesados.

A possibilidade de utilizar nutrientes presentes em efluentes de tratamento esgoto doméstico (Aslan, 2006) pode reduzir ainda mais os custos de produção de biomassa de microalgas (Rawat *et al.*, 2011, Cho *et al.*, 2011) e ainda evitar

eutrofização nos corpos receptores. Esgotos sanitários urbanos contêm em média 50 g/m^3 de nitrogênio, sendo que cada m^3 pode contribuir para a formação de 0,5 kg de biomassa seca.

Dentre os sistemas biológicos de tratamento de esgotos, destacam-se os anaeróbios pela possibilidade de produção de metano na forma de biogás dentro da própria ETE. Os reatores UASB incluem amplas vantagens, principalmente no que diz respeito a requisitos de área, simplicidade e baixo custo de projeto, operação e manutenção (Chernicharo *et al.*, 1999). Alguns aspectos negativos lhes são atribuídos, tais como, possibilidade de liberação de maus odores; baixa capacidade do sistema em tolerar cargas tóxicas; elevado intervalo de tempo necessário para a partida do sistema e necessidade de uma etapa de pós-tratamento.

Como exemplo de pós-tratamento para o efluente do UASB, podemos citar as lagoas de polimento, que figuram como tecnologia favorável, e baixo índice de mecanização. O principal objetivo é a remoção complementar da carga orgânica, podendo acrescentar, em alguns momentos, a remoção de nutrientes e patógenos (Cavalcanti *et al.*, 2001).

A exigência de padrões de qualidade de efluentes cada vez mais restritivos em vários locais no mundo, impõe a necessidade de polimento no efluente de lagoas de estabilização facultativas, principalmente no que diz respeito à remoção de nutrientes e algas (Middlebrooks apud Oliveira e Gonçalves, 1996).

Entre as diversas aplicações econômicas da biomassa microalgácea, inclui o seu aproveitamento na produção de biocombustíveis seguindo diferentes vias potenciais. Na produção de metano através de fermentação anaeróbia da biomassa (Frigon *et al.*, 2013); na produção de biohidrogênio por fermentação aeróbia/anaeróbia ou via

biológica direta (Chen *et al.*, 2013) como fonte de óleos para a geração de biodiesel (Qin, 2005; Kapdan e Kargi, 2006; Chisti, 2007; Yen *et al.*, 2013) e produção de etanol (Bahadar e Khan, 2013; Chen *et al.*, 2013), e diferentes vias de conversão termoquímicas da biomassa, tais como, pirólise, a gaseificação e a liquefação termoquímica (Barreiro *et al.*, 2013; Duan *et al.*, 2013). Na destinação da biomassa para produção de metano, Collet *et al.* (2011) afirmam que um caminho ótimo, sobre o ponto de vista ambiental e econômico, é o do aproveitamento da biomassa microalgácea após a extração de lipídios.

Este trabalho teve como objetivo isolar e verificar a sobrevivência de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto, traçar as características físico-químicas de biomassa microalgácea seca e verificar o potencial para remoção de nitrogênio e fósforo de efluente de UASB, em regime de batelada e sob condições laboratoriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização de efluente de tratamento de esgoto em reator tipo UASB

Para a realização desta pesquisa foi utilizado o efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada no Parque Experimental do Núcleo Água – Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, localizada no Campus Universitário de Goiabeiras – Vitória. Este sistema de tratamento de esgoto é composto de um Reator Anaeróbio do tipo UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket* – Reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente) e recebe esgoto do Bairro Jardim da Penha, do município de Vitória, Espírito Santo, numa vazão de até 0,5 L/s. Este sistema de tratamento é seguido de um biofiltro aerado submerso e um decantador.

As análises físico-químicas do efluente do UASB foram realizadas no Laboratório de Saneamento (LABSAN) no Centro Tecnológico do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Vitória-ES. O efluente do UASB natural (EFN) e o efluente do UASB autoclavado (EFA) foram caracterizados e comparados quanto aos parâmetros pH, turbidez, DQO, DBO₅, SV, fósforo total e N-NTK, segundo os métodos indicados na 21ª Edição do *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50).

2.2 Isolamento de microalgas em efluente de tratamento de esgoto tipo UASB

Para a realização do isolamento de microalgas, cerca de 200 L de efluente do sistema de tratamento anaeróbio de esgoto tipo UASB – ETE/UFES, seguido de um biofiltro aerado submerso e um decantador, foram acondicionados em dois reservatórios de fibra de vidro com capacidade para 310 litros/cada coberto com tela

(Figura I.1) sob condições naturais de temperatura e luminosidade. Por 15 dias, amostras deste cultivo foram levadas ao laboratório para a realização do isolamento de microalgas pelo método da micropipetagem, seguido pelo método de placas por esgotamento em estria (Andersen e Kawachi, 2005; Guillard, 2005).



Figura I.1 Reservatórios contendo efluente de UASB+biofiltro+ decantador da ETE/UFES-ES para crescimento natural de microalgas e posterior isolamento.

Os isolados obtidos foram mantidos em laboratório sob condições de temperatura ambiente (18 a 31 °C) e iluminação artificial com lâmpadas brancas fluorescentes resultando numa luminosidade média de 4.700 lx com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). Esta luminosidade é semelhante à utilizada em experimentos de bancada realizados por Aslan e Kapdan (2006) e também por Feng *et al.* (2011). Para a manutenção dos cultivos foi utilizado como meio na fase líquida, o efluente do UASB autoclavado (EFA) e em meio sólido, o efluente-agar (EFA + 1% ágar-ágar). As sub-culturas foram renovadas a cada 15 dias (Lorenz *et al.*, 2005). Para a identificação ao nível de gênero das microalgas isoladas foram utilizadas diferentes fontes bibliográficas especializadas (Round, 1983; González, 1996; Bicudo 2005; Reviere, 2006) e o site <http://www.algaebase.org/browse/taxonomy>.

2.3 Sobrevivência dos isolados de microalgas em efluente não estéril

Para verificar o potencial de sobrevivência dos isolados foram utilizados erlenmeyers contendo 30 mL de EFN inoculados com 1 mL de cultivo do isolado previamente preparado em EFA. O experimento foi conduzido sob condições de laboratório à temperatura ambiente e luminosidade média de 4.700 lx com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). A cada vinte e quatro horas, durante 10 (dez) dias, foram tomadas amostras para contagem do número de células do isolado e número total de células de microalgas utilizando Câmara de Neubauer ao microscópio óptico. Foram realizadas duas repetições de cultivo para cada isolado, contadas em triplicata. O cálculo do percentual de sobrevivência foi realizado conforme equação (2):

$$\% \text{ Sobrevivência} = \frac{\text{número de células do isolado/mL de cultivo}}{\text{número de células total de microalgas/mL de cultivo}} \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

2.4 Cultivo, remoção e caracterização da biomassa

Foi realizado previamente um experimento de cultivo para cada isolado em EFA com aeração sob condições laboratoriais para se obter a curva de crescimento e assim identificar o período de produção máxima das microalgas.

Após a análise das curvas de crescimento, foram estabelecidos 14 dias de cultivo para realizar a produção de biomassa de cada um dos isolados, que foi realizado à temperatura ambiente (18 a 31 °C) e luminosidade média de 4.700 lx, com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro) em frasco de vidro, contendo 20 litros de EFA com sistema de aeração com filtro de linha na velocidade média de 1,5 mL/s, para inserção de CO₂ atmosférico (Figura I.2-a).

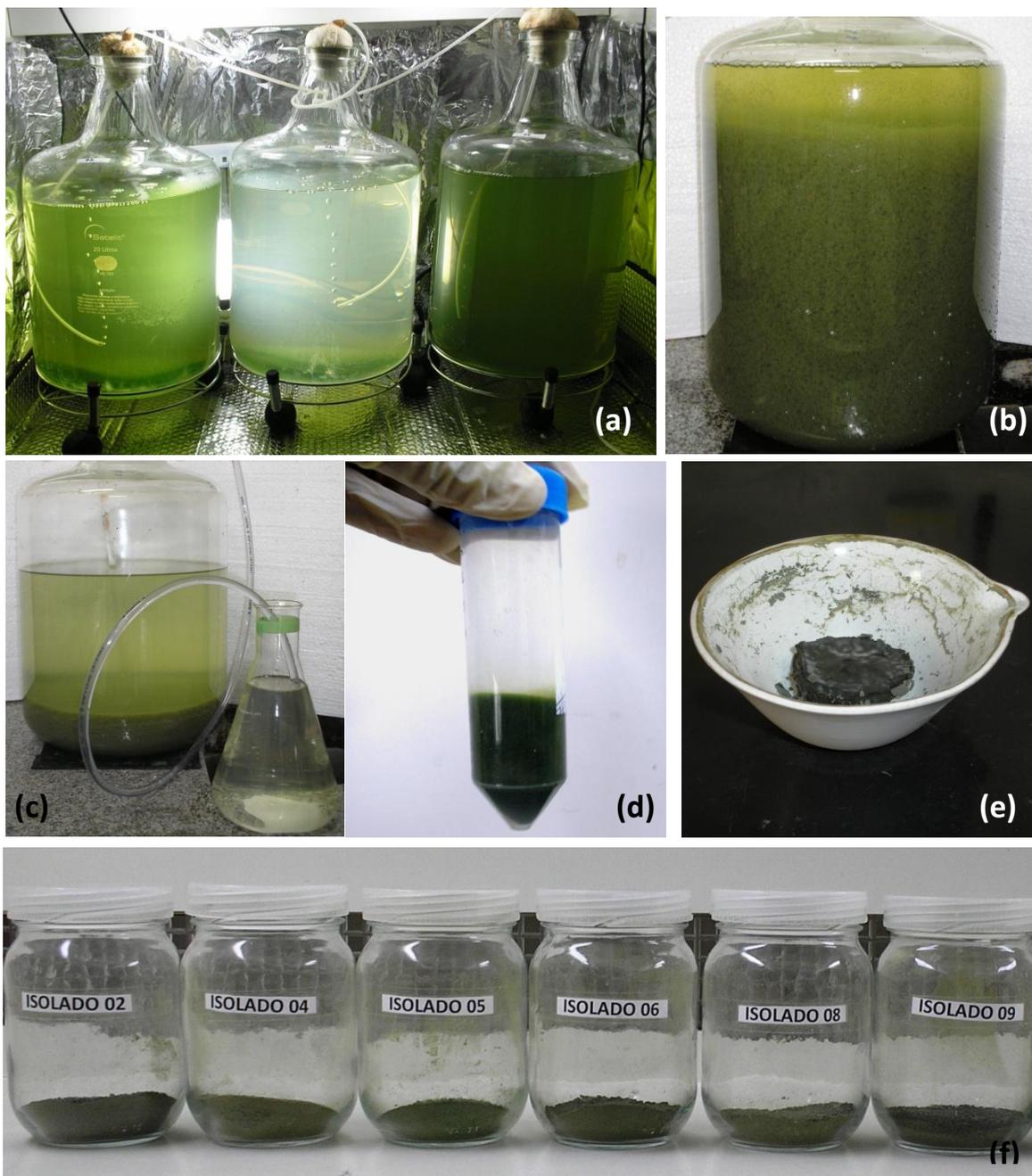


Figura 1.2 Fotos da sequência do cultivo para a produção da massa seca de biomassa dos isolados, misto e do cultivo natural em efluente de tratamento de esgoto: **(a)** cultivo de microalgas para produção de biomassa; **(b)** floculação do cultivo com adição de sulfato de alumínio; **(c)** decantação e remoção de amostra do sobrenadante; **(d)** centrifugação da biomassa após decantação; **(e)** secagem em estufa (65°C) da biomassa microalgácea; **(f)** armazenamento da biomassa seca e triturada para caracterização bioquímica.

Após 14 dias de cultivo foi adicionado sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) (Figura 1.2-b) na concentração de 250 mg/L (conforme jarteste realizado previamente para

determinação da melhor concentração do coagulante) e após a remoção do sobrenadante (Figura 1.2-c), o sedimento foi levado à centrifuga a 2000 rpm por 5 minutos para remoção da fase sólida (Figura 1.2-d). A biomassa obtida foi então levada para secagem em estufa à 65 °C (Figura 1.2-e), depois triturada com pistilo e acondicionada em frascos de vidro (Figura 1.2-f) para posterior realização das análises dos teores de lipídios totais, carboidratos totais, proteínas totais e sólidos voláteis na biomassa de cada isolado. Este procedimento foi repetido até a obtenção de no mínimo 50 g de biomassa seca, para realização das análises de caracterização química da biomassa em triplicata.

a. Determinação de proteínas totais

A percentagem de proteínas totais na biomassa microalgácea seca foi determinada pelo método de aplicação do fator de conversão N-Prot. Para isto foram utilizados 10 mg de matéria seca (MS) de biomassa microalgácea para realização da análise de nitrogênio pelo método Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), segundo 21ª Edição *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50). O valor de N encontrado foi multiplicado por 4,71, fator médio de conversão da concentração de nitrogênio em biomassa microalgácea em proteínas totais, sugerido por Lourenço (2006).

b. Determinação de carboidratos totais

A determinação da percentagem de carboidratos totais foi realizada pelo Método do Fenol-Ácido Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Foram pesados 10 mg de MS e transferidos para tubos falcon de 15 mL, adicionou-se 10 mL da solução de ácido tricloroacético a 5% e foram levados a banho-maria por uma hora a 40°C. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 20 minutos e pipetou-se uma alíquota de 1 mL do sobrenadante, foram adicionados a cada tubo de ensaio 1 mL da

solução de fenol 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm. Paralelamente foi construída uma curva de calibração em que a glicose foi utilizada como o carboidrato de referência.

c. Determinação de lipídios totais

Para a determinação de lipídios foi utilizado o método adaptado de Bligh & Dyer (1959), um dos mais aplicados na extração de lipídios em biomassa micralgácea (Craggs e Park, 2011; Feng *et al.*, 2011; Mutanda *et al.*, 2011; Nascimento *et al.*, 2012; Rawat *et al.*, 2011). Foram pesadas 5 g de MS da biomassa micralgácea, em erlenmeyers de 125 mL previamente secos. Foram adicionados 25 mL de metanol, 12,5 mL de clorofórmio e 5 mL de água. O erlenmeyer contendo a amostra foi posto para sonicar em banho ultrassônico por um período de 40 minutos. Após este tempo, foram adicionados mais 12,5 mL de clorofórmio e 12,5 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% e realizou-se a sonicação novamente por mais 20 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada em papel de fibra de vidro GF1 e o filtrado coletado em tubos falcon de 50 mL. A parte superior foi removida com uma pipeta e a parte inferior do filtrado foi separada em um becker de vidro previamente seco e pesado, e levado para evaporação do solvente a 80°C por cerca de 15-20 minutos, em seguida seca em estufa a 105 °C por 1 hora e depois pesada. O percentual de lipídios totais foi calculado considerando o peso da amostra e o peso do extraído.

d. Determinação de sólidos voláteis (SV)

A quantificação de sólidos voláteis foi realizada pelo método gravimétrico, segundo a 21ª edição do *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50).

2.5 Caracterização físico-química do efluente final após cultivo e remoção da biomassa

Foram tomadas amostras de 1,5 L do sobrenadante dos cultivos após a decantação pela adição do coagulante para análise de clorofila-a pelo método *in vivo* e dos parâmetros físico-químicos: pH, turbidez, sólidos voláteis (SV), demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio-NTK e fósforo total, segundo os métodos indicados pelo 21ª Edição do *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50). Para cada lote de cultivo, foi mantido um erlenmeyer com EFA sem inóculos para verificar possíveis alterações por outros fatores que não crescimento microalgáceo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química do efluente de tratamento de esgoto sanitário em reator tipo UASB

Com os resultados da caracterização físico-química do efluente de UASB descritos na tabela I.1, pode-se comparar estes parâmetros entre o efluente de UASB natural (EFN) e o efluente de UASB autoclavado (EFA). Após a autoclavagem do efluente observou-se o aumento nos valores do pH de 7,0 para 10,0 e na turbidez de 80,2 para 101,7 NTU, redução nos valores de DBO₅ de 70,0 mg/L para 42,7 mg/L e nos de nitrogênio-NTK de 28,0 mg/L para 23,5 mg/L. Esta redução de nitrogênio está relacionado a perdas de íon amônio (NH₄⁺) na forma de amônia (NH₃) pelo aquecimento e associado também ao aumento de pH. Segundo von Sperlling *et al.* (2009) em condições de elevado pH, em torno de 9,5, mais de 50 % do íon NH₄⁺ presente é convertido no gás NH₃, que tende a se desprender da massa líquida,

num processo denominado volatilização da amônia, considerando a seguinte equação de equilíbrio químico: $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{NH}_4^+$.

Tabela I.1 Caracterização físico-química do efluente de UASB natural e autoclavado ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| | pH | Turbidez NTU | DQO mg/L | DBO ₅ mg/L | SV mg/L | Fósforo Total mgP/L | NTK mgN/L |
|---|----------|-----------------|-------------|--------------------------|------------|---------------------------|--------------|
| Efluente de UASB natural (EFN) | 7,6±0,0 | 80,2±0,4 | 207,9±16,7 | 70,0±2,0 | 162,7±44,0 | 5,0±0,7 | 28,0±1,5 |
| Efluente de UASB Autoclavado (EFA) | 10,0±0,0 | 101,7±1,2 | 162,7±10,5 | 42,7±10,3 | 157,3±23,9 | 5,6±0,6 | 23,5±1,4 |

Foi observada a presença de precipitados no recipiente contendo EFA, após a sua autoclavagem e resfriamento e, é possível atribuir este fato ao pH elevado (10,0), o que implica em mudança do equilíbrio das espécies de fosfatos (PO_4^{-3}). Esta variação de pH pode resultar na precipitação de sais insolúveis de fosfato, na forma de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) e a estruvita ($\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$) (Cavalcanti *et al.*, 2001). A partir dos teores de fósforo e de nitrogênio do EFA (Tabela I.1) considera-se que não houve alterações significativas após a autoclavagem do efluente de UASB em relação a estes elementos. Sendo o nitrogênio e o fósforo os nutrientes prioritários no cultivo das microalgas, a EFA apresenta potencial para produção de biomassa microalgácea sem perder a representatividade do efluente de UASB.

3.2 Isolamento de microalgas

Nas amostras do cultivo em reservatórios com efluente de UASB+biofiltro+decantador, conforme descrito no item 2.2, foram observadas, ao microscópio óptico, uma variedade de microalgas verdes, algumas diatomáceas e

cianobacterias, incluindo filamentosas. Foram isoladas 6 (seis) microalgas verdes de amostras deste cultivo (Figura I.4), e identificadas como *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04, *Coccomyxa* sp. L05, *Chlorella* sp. L06, *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradasmus* sp. L09 (Figura I.3). A presença de *Chlorella*, *Scenedesmus* e de gêneros da Ordem Chlorococcales, já havia sido registrada por Cruz (2005), em experimento realizado com lagoa de polimento que recebeu efluente de UASB também na Estação de Tratamento de Esgoto da UFES.

| FILO | CLASSE | ORDEM | FAMÍLIA | GÊNERO |
|-------------|------------------|----------------|-----------------|--|
| Chlorophyta | Chlorophyceae | Chlorococcales | Chlorococcaceae | Chlorococcum (Meneghini) |
| | | | Coccomyxaceae | Coccomyxa (Schmidle) |
| | | Sphaeropleales | Scenedesmaceae | Scenedesmus (Meyen) |
| | | | | Desmodesmus (R.Chodat) S.S..An, T.Friedl & E.Hegewald |
| | Trebouxiophyceae | Chlorellales | Chlorellaceae | Tetradasmus (S.M.Smith) |
| | | | | Chlorella (M.Beijerinck) |

Figura I.3 Identificação das seis microalgas isoladas de efluente de tratamento de esgoto sanitário da ETE/UFES–Goiabeiras.

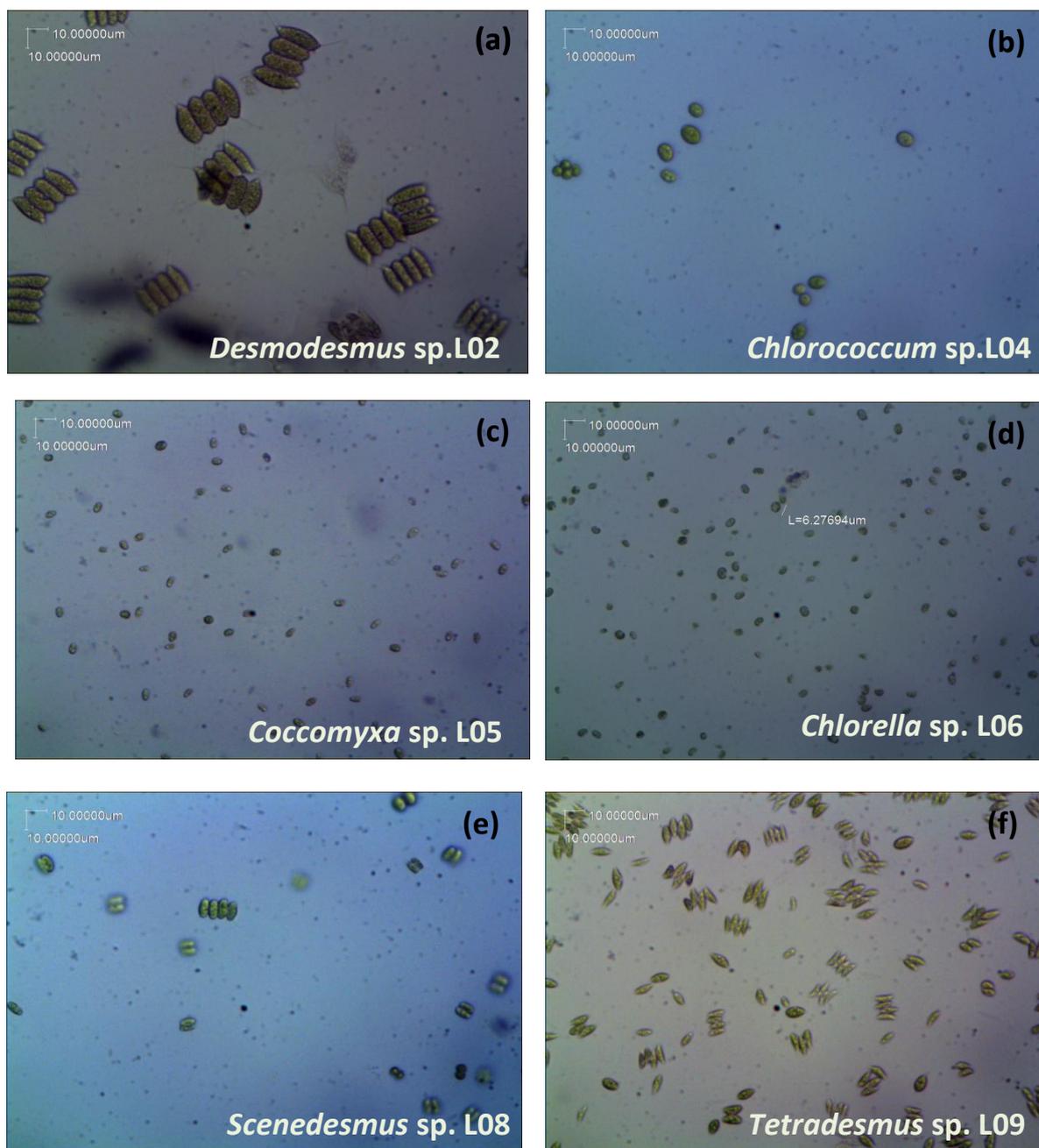


Figura I.4 Microalgas isoladas de efluente de UASB+biofiltro+decantador, fotos ao microscópio óptico (x400): (a) *Desmodesmus* sp. L02; (b) *Chlorococcum* sp. L04; (c) *Coccoomyxa* sp. L05; (d) *Chlorella* sp. L06; (e) *Scenedesmus* sp. L08; (f) *Tetradismus* sp. L09.

3.3 Sobrevivência dos isolados de microalgas em efluente não estéril

A capacidade de sobreviver de cada um dos seis isolados de microalgas foi mensurada através do cálculo de percentual de sobrevivência em EFN. Os resultados obtidos estão expostos na figura I.5.

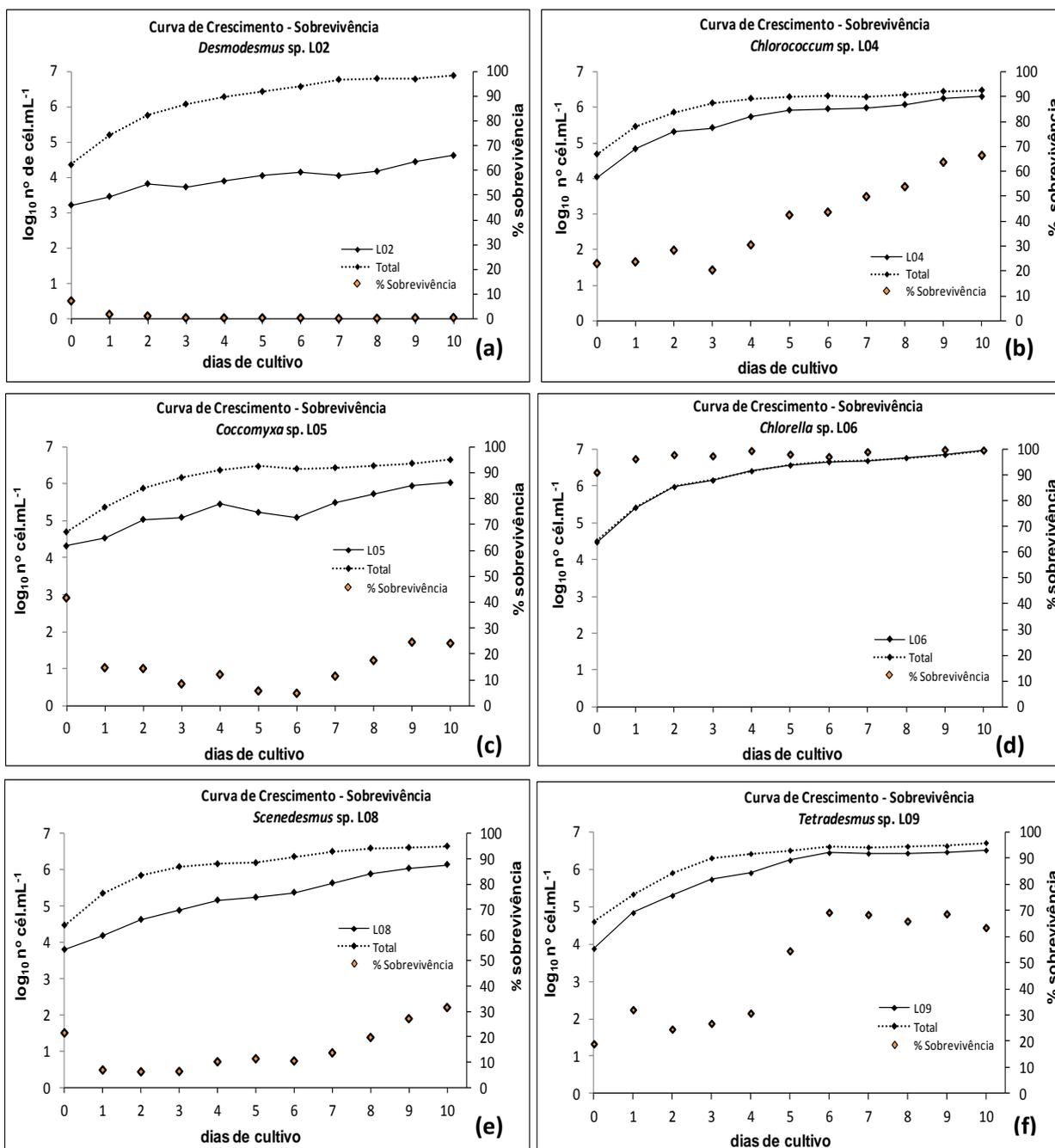


Figura I.5 Curva de crescimento e sobrevivência de seis isolados de microalgas cultivadas em efluente de UASB natural, em laboratório, à temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx, fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro): **(a)** *Desmodesmus* sp. L02; **(b)** *Chlorococcum* sp. L04; **(c)** *Cocomyxa* sp. L05; **(d)** *Chlorella* sp. L06; **(e)** *Scenedesmus* sp. L08; **(f)** *Tetradesmus* sp. L09. (Apêndices I.1 e I.2)

A *Chlorella* sp. L06 demonstrou a melhor adaptação de crescimento em EFN. Se multiplicou-se rapidamente sem interferências ou possíveis limitações presentes no efluente de UASB, tais como, competitividade por nutrientes e predadores. A *Chlorella* sp. L06 apresentou ao longo dos 10 (dez) dias de cultivo em EFN, sob condições laboratoriais a sobrevivência maior que 90% (Figura I.5-d).

As médias dos percentuais de sobrevivência dos 10 (dez) dias de cultivo para cada isolado foram calculadas (Tabela I.2). Registrou-se a média de 1,2% para o isolado *Desmodesmus* sp. L02, de 40,3% para *Chlorococcum* sp. L04, de 16,3% para *Coccomyxa* sp. L05, de 97,7% para *Chlorella* sp. L06, de 14,9% para *Scenedesmus* sp. L08 e de 47,5% para *Tetradismus* sp. L09.

Tabela I.2 Percentual diário e média de sobrevivência dos isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB natural (EFN), sob condições de laboratório.

| Isolado | dias de cultivo | | | | | | | | | | | MÉDIA X±desvio padrão, n=11 |
|-----------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------------------------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 7,3 | 1,8 | 1,2 | 0,5 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,2 | 0,2 | 0,5 | 0,5 | 1,2±2,1 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 22,8 | 23,5 | 28,2 | 20,2 | 30,2 | 42,3 | 43,5 | 49,7 | 53,7 | 63,5 | 66,2 | 40,3±16,5 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 41,7 | 14,7 | 14,4 | 8,4 | 12,1 | 5,7 | 4,8 | 11,4 | 17,5 | 24,6 | 24,1 | 16,3±10,6 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 91,0 | 96,2 | 97,8 | 97,4 | 99,4 | 98,0 | 97,1 | 99,0 | 99,4 | 99,8 | 99,6 | 97,7±2,5 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 21,4 | 6,9 | 6,1 | 6,3 | 10,1 | 11,3 | 10,4 | 13,6 | 19,6 | 27,0 | 31,4 | 14,9±8,7 |
| <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 18,9 | 32,0 | 24,5 | 26,7 | 30,6 | 54,4 | 69,1 | 68,3 | 65,8 | 68,6 | 63,3 | 47,5±20,7 |

Embora os seis isolados foram obtidos de efluente de ETE, condições adversas podem inibir ou não favorecer o seu crescimento, como é o caso da baixa competitividade do isolado *Desmodesmus* sp. L02, que ao longo do cultivo observou-se predominância de espécies mais adaptadas e competitivas. Cho *et al.* (2011) afirmam que efluente de ETE pode ser utilizado para produção de biomassa microalgácea com menor custo, pois evita a necessidade de adição de nutrientes, porém um método de pré-tratamento tal como filtração ou radiação UV, para controle

de microrganismos competidores por nutrientes e/ou predadores de microalgas, é necessário para que sejam removidos.

Os resultados da capacidade de crescimento em efluente não autoclavado de um isolado de microalga, que apresenta interesse específico para produção de biocombustíveis é de grande importância, considerando sua possível utilização como inóculo em cultivos de larga escala, dispensando custos com possíveis desinfecções do efluente antes do cultivo.

3.4 Caracterização da biomassa microalgácea

As curvas de crescimento do cultivo em EFA com aeração para cada um dos seis isolados foram traçadas (Figura 1.6). E foi possível observar que, a partir do 15^o dia de cultivo, a produção de clorofila-a alcançou a fase estacionária de crescimento para os isolados, *Chlorococcum* sp. L04, *Coccomyxa* sp. L05, *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09. E os isolados *Desmodesmus* sp. L02 e *Chlorella* sp. L06 apresentaram esta fase alcançada a partir do 17^o dia de cultivo. Assim, as remoções das biomassas dos isolados de microalgas para caracterização físico-química foram realizadas no 14^o dia de cultivo. Este período corresponde à proximidade do final da fase log para os isolados testados.

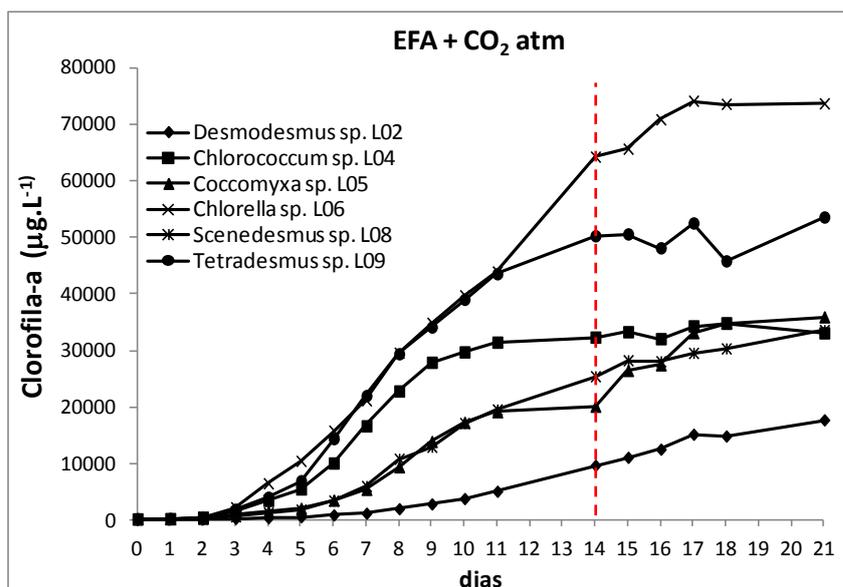


Figura I.6 Curva de crescimento com base em clorofila-a dos seis isolados de microalgas, cultivados em efluente de UASB autoclavado (EFA) com aeração, em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h claro/escuro.

Os resultados das análises de caracterização físico-químicas das biomassas secas dos isolados estão reunidos na Tabela I.3. Pode-se observar que a quantidade média geral de proteínas totais na biomassa dos isolados, 25,0%, é maior, quando comparado com os teores de lipídios totais, 15,4%, e de carboidratos totais, 14,8%.

Tabela I.3 Médias dos resultados de caracterização físico-química da biomassa seca dos isolados de microalgas, cultivados em efluente de UASB autoclavado, sob condições laboratoriais. ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, para $n=3$; para as médias de proteínas e de sólidos voláteis seguidas de mesma letra, não diferem significativamente ao nível de $P=0,05$).

| ISOLADO | % Proteínas totais | % Lipídios totais | % Carboidratos totais | % SV |
|-----------------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 23,5±1,4 <i>a</i> | 15,5±2,1 | 10,8±2,7 | 67,5±1,2 <i>ac</i> |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 27,6±6,6 <i>ab</i> | 14,5±2,8 | 29,3±16,1 | 61,3±0,7 <i>b</i> |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 39,7±2,6 <i>be</i> | 17,9±0,3 | 11,5±6,0 | 61,7±1,8 <i>b</i> |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 22,9±1,4 <i>ad</i> | 13,2±1,7 | 13,8±11,7 | 66,1±0,9 <i>a</i> |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 12,9±2,9 <i>c</i> | 15,0±0,6 | 13,5±2,6 | 70,0±0,5 <i>c</i> |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 23,4±9,8 <i>ace</i> | 16,5±1,4 | 10,0±1,3 | 69,2±0,7 <i>c</i> |
| Média | 25,0 | 15,4 | 14,8 | 66,0 |

(Apêndices I.3 a I.7)

Não houve diferença significativa, ao nível de 5%, entre os isolados para os teores lipídios totais e de carboidratos totais. Quanto ao teor de proteínas, destacou-se o isolado *Coccomyxa* sp. L05 que apresentou o maior valor, 39,7% e o *Scenedesmus* sp. L08 que apresentou o menor valor, 12,9%.

Diante do perfil bioquímico da biomassa microalgácea, a produção de biogás é uma das possíveis aplicações, principalmente para a geração de energia em Estações de Tratamento de Esgoto que incluam sistemas biológicos anaeróbios. Mas segundo Brennan e Owende (2010) o alto conteúdo proteico das microalgas aumenta a amônia no processo de digestão anaeróbia, o que inibe os microrganismos anaeróbios. Mutanda *et al.* (2011), afirmam que a co-digestão ou pré-tratamento físico-químico são estratégias que podem aumentar significativamente e eficientemente a conversão de matéria orgânica algácea em metano. Por outro lado, Frigon *et al.* (2013) detectaram a produção de 410 mL/g SV para biomassa de *Scenedesmus* sp. AMDD jul-2011 por digestão anaeróbia e confirma que estudos voltados para pré-tratamentos de biomassa microalgácea podem aumentar a produção de metano por digestão anaeróbia.

Os teores de sólidos voláteis ficaram na faixa de 61,3 a 70,0% (Figura I.7). Por outro lado, mesmo não havendo diferença significativa, a quantidade média de carboidratos totais (29,3%) para o isolado *Chlorococcum* sp. L04 (Figura I.8) merece destaque em estudos posteriores mais detalhados sobre a sua produção de carboidratos totais visando a aplicação na geração de bioetanol.

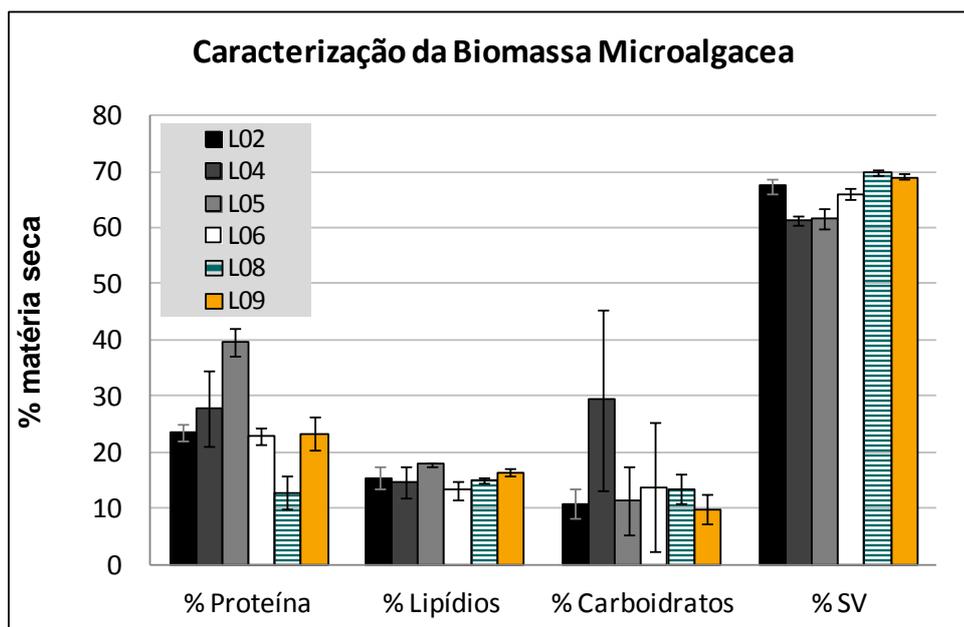


Figura I.7 Caracterização físico-química da biomassa de seis isolados de microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado, em laboratório à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média de 4.700 lx, com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). L02=*Desmodesmus* sp. L02; L04=*Chlorococcum* sp. L04; L05=*Coccomyxa* sp. L05; L06=*Chlorella* sp. L06; L08=*Scenedesmus* sp. L08 e L09=*Tetradismus* sp. L09. (barra de erros = desvio padrão, n=3).

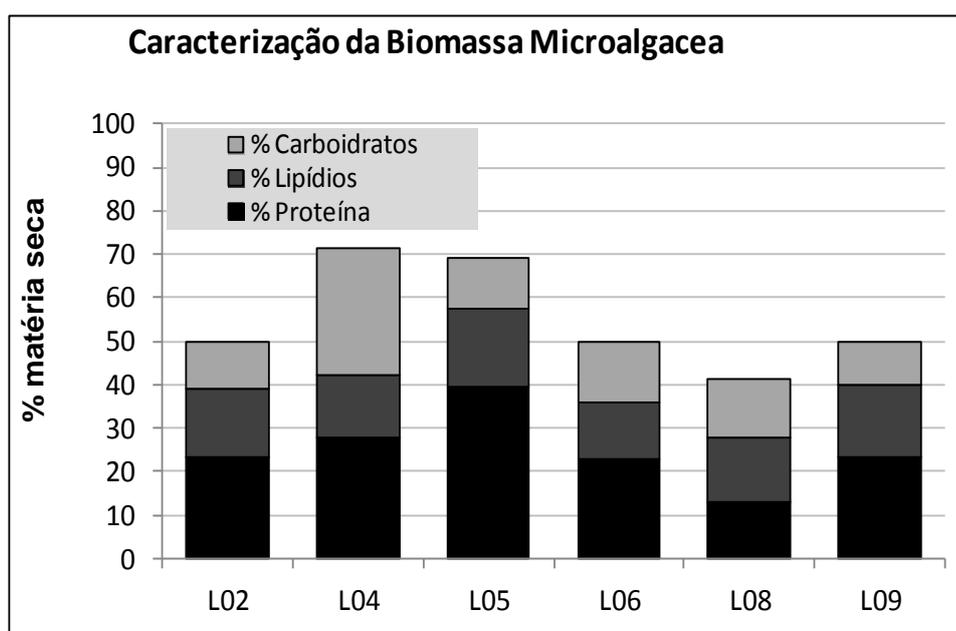


Figura I.8 Caracterização físico-química da biomassa por isolado de microalgas cultivadas em EFA em laboratório, à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média de 4.700 lx. Sendo L02=*Desmodesmus* sp. L02; L04=*Chlorococcum* sp. L04; L05=*Coccomyxa* sp. L05; L06=*Chlorella* sp. L06; L08=*Scenedesmus* sp. L08 e L09=*Tetradismus* sp. L09.

3.5 Caracterização físico-química do sobrenadante do cultivo

As amostras dos sobrenadantes dos cultivos dos seis isolados, após colheita das biomassas por adição do coagulante, apresentaram remoção maior que 99% do teor de clorofila-a no cultivo para todos os seis isolados conforme demonstrado na tabela I.4. Isto indica que houve eficiência na utilização do sulfato de alumínio na concentração de 250 mg/L como agente coagulante.

Tabela I.4 Teores de clorofila-a e percentual de remoção por coagulação/precipitação da biomassa após adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio ($Al_2(SO_4)_3$) aos cultivos dos seis isolados de microalgas cultivados em EFA, à temperatura ambiente (18 a 31°C) e luminosidade média contínua de 4.700lx.

| Isolado | Clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) | | % Remoção de clorofila-a |
|-----------------------------|---------------------------------|--------------|--------------------------|
| | Cultivo 14º dia | Sobrenadante | |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 9.608,6 | 66,1 | 99,31 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 32.291,1 | 14,0 | 99,95 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 20.063,3 | 61,3 | 99,69 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 64.237,8 | 99,1 | 99,85 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 25.372,2 | 67,7 | 99,65 |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 50.234,4 | 26,5 | 99,95 |

Os resultados das análises físico-químicas dos sobrenadantes dos cultivos dos isolados em EFA, revelaram que a turbidez foi reduzida para valores inferiores a 3,1 NTU. Enquanto no sobrenadante do EFA (sem cultivo) a turbidez foi de 29,2 NTU. Isto demonstra que o crescimento de microalgas colaborou com redução da turbidez em 36,6%, conforme demonstrado na tabela I.5. (Apêndice I.8)

O sobrenadante do cultivo após a remoção da biomassa apresentou pH entre 4,1 e 6,5 para os isolados, caracterizando uma redução esperada devido à adição do sulfato de alumínio como coagulante.

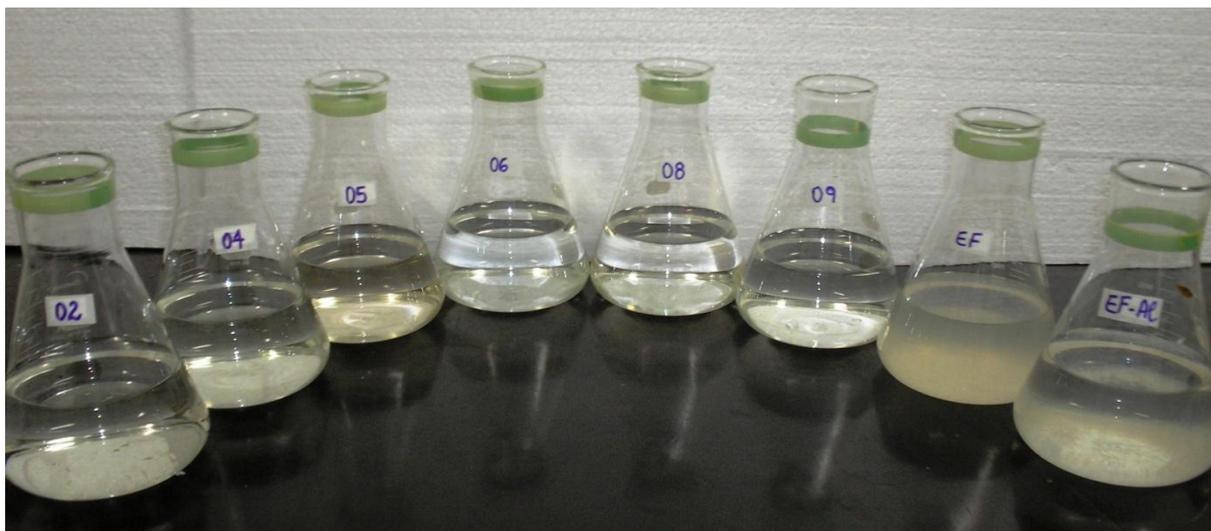


Figura I.9 – Aspecto visual do sobrenadante após a remoção de biomassa dos isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB autoclavado, através da coagulação com sulfato de alumínio. Da esquerda para direita: 02=*Desmodesmus* sp. L02; 04=*Chlorococcum* sp. L04; 05=*Coccomyxa* sp. L05; 06=*Chlorella* sp. L06; 08=*Scenedesmus* sp. L08 e 09=*Tetrademus* sp. L09; EF=EFA sem adição de coagulante e EF-Al=EFA após coagulação/precipitação.

Enquanto a remoção de fósforo do EFA (sem cultivo) pelo coagulante sulfato de alumínio ficou em 48,1%, a remoção dos teores de fósforo nos sobrenadantes dos cultivos dos isolados foram superiores a 79,1%, chegando a 90,6% no cultivo da *Chlorella* sp. L06 e a 95,4% no cultivo do *Tetrademus* sp. L09 (Figura I.10), atingindo valores inferiores a 1,5 mg/L. Isto significa uma remoção média de fósforo de 40,7% devido ao crescimento de microalgas no EFA.

Tabela I.5 Percentual de remoção de parâmetros físico-químicos com adição de sulfato de alumínio aos cultivos de isolados de microalgas.

| Parâmetro | % Remoção no sobrenadante | | % Remoção devido ao crescimento de biomassa (b - a) |
|-----------------|---------------------------|---|---|
| | EFA-final (a) | Média do cultivo dos isolados \pm desvio padrão (n=6) (b) | |
| Turbidez | 60,5 | 97,1 \pm 0,8 | 36,6 |
| DQO | 36,8 | 56,9 \pm 8,8 | 20,1 |
| SV | 19,5 | 60,8 \pm 4,9 | 41,3 |
| P | 48,1 | 88,8 \pm 5,4 | 40,7 |
| NTK | 3,2 | 74,9 \pm 12,9 | 71,7 |

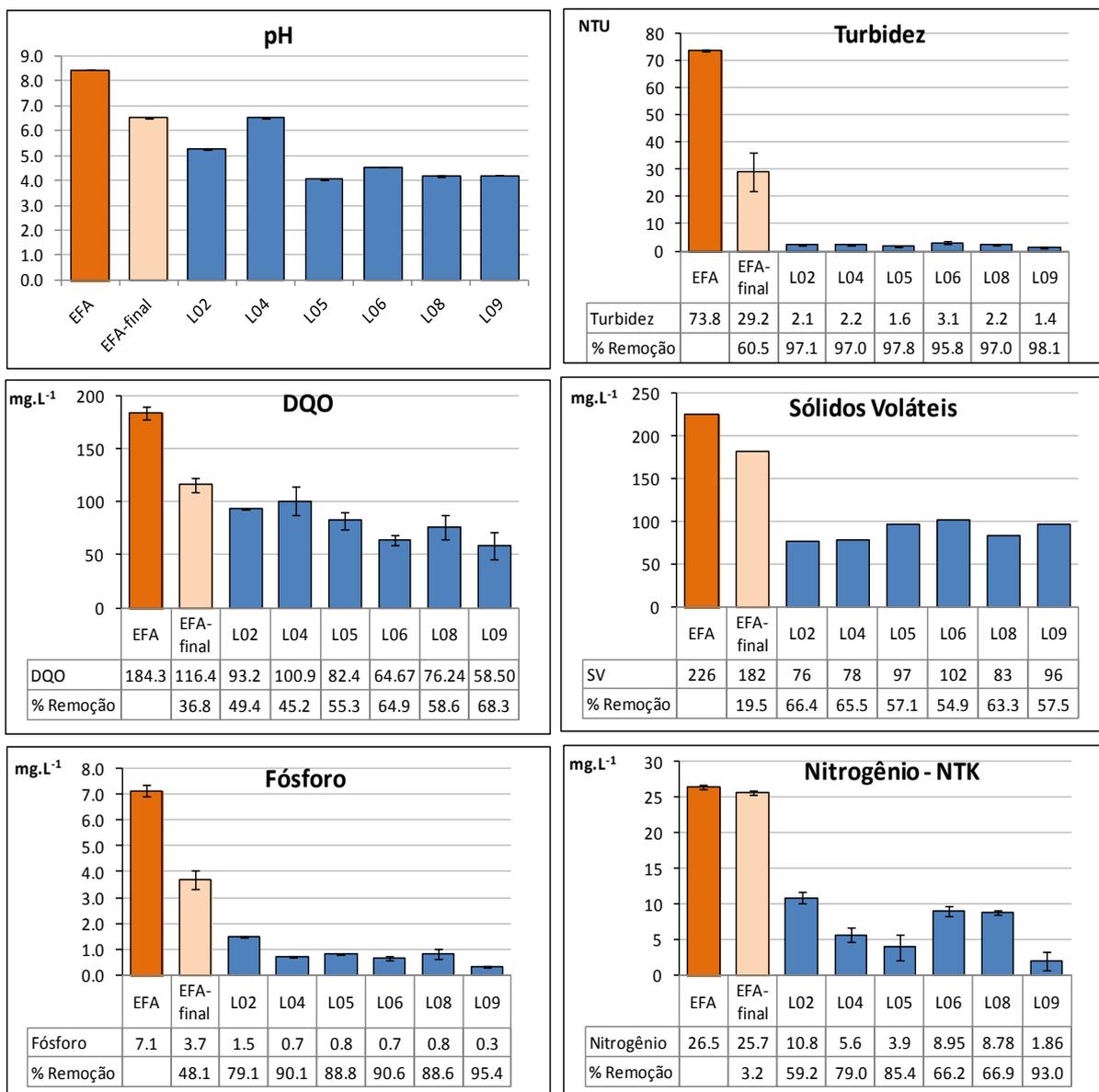


Figura I.10 Caracterização físico-química do sobrenadante do cultivo dos isolados de microalgas à temperatura ambiente (18 a 31 °C) e luminosidade média constante de 4.700 lx após remoção da biomassa pela adição de 250 mg/L de $Al_2(SO_4)_3$ como coagulante. Sendo EFA=efluente de UASB autoclavado; EFA-final= sobrenadante do EFA após adição de coagulante; L02=*Desmodesmus* sp. L02; L04=*Chlorococcum* sp. L04; L05=*Coccomyxa* sp. L05; L06=*Chlorella* sp. L06; L08=*Scenedesmus* sp. L08 e L09=*Tetradismus* sp. L09 em EFA (barras de erro=desvio padrão, n=3).

Os resultados para remoção de nitrogênio mostraram que o sulfato de alumínio removeu menos de 4% do nitrogênio do EFA sem cultivo, enquanto que com o cultivo de *Tetradismus* sp. L09, chegou a remover o total de 93%, havendo a

remoção de 24,64 mg/L. O isolado que removeu a menor quantidade de nitrogênio foi o *Desmodesmus* sp. L02., 59,2% (Figura I.10). Considerando a média geral do percentual de remoção de N-NTK, podemos concluir que 71,7% de remoção foi promovida especificamente devido ao crescimento de biomassa microalgácea dos isolados, conforme demonstrado na tabela I.5. Resultados de remoção de fósforo e de nitrogênio foram obtidos por Feng *et al.* (2011), que cultivaram *Chlorella vulgaris* em esgoto sintético e removeu 97% de NH_4^{+1} e 96% de fósforo total. Cho *et al.* (2011) registraram a remoção de 92% de N_t e 86% de P_t , quando cultivaram *Chlorella* sp. em efluente de ETE.

No cultivo de *Chlorella* sp. L06, observou-se que mesmo havendo um bom crescimento da microalga, baseado na clorofila-a *in vivo*, a quantidade de nitrogênio no sobrenadante foi de 8,95 mg/L. Pode-se atribuir tal fato aos teores residuais de 99,1 $\mu\text{g/L}$ de clorofila-a no sobrenadante do cultivo deste isolado. Assim é interessante investigar, em estudos posteriores, a dosagem ideal deste coagulante para cada isolado e/ou sua relação com a concentração de células de microalgas no cultivo.

4 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que as microalgas *Chlorella* sp. L06 e a *Tetradismus* sp. L09 são capazes de sobreviver e crescer melhor no cultivo em efluente de UASB após sua inoculação, indicando ser mais adaptadas que os demais isolados de microalgas em relação à competição por nutrientes e predadores presentes no efluente. As biomassas secas dos isolados apresentaram, em média, 66% de SV, 25,0% de proteínas totais, 15,4% de lipídios totais e 14,8% de carboidratos totais. O

cultivo de microalgas reduziu em até 93% de NTK e 95,4% de fósforo total (*Tetradesmus* sp. L09), melhorou a qualidade do efluente de UASB, através da conversão destes nutrientes em biomassa microalgácea.

5 AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio institucional, em especial ao LABSAN (Laboratório de Saneamento) onde realizaram-se os experimentos e análises. Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de Doutorado e a CESAN (Companhia Espírito Santense de Saneamento) pela colaboração na realização desta pesquisa.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A.A.; IBRAHEEM, I.B.M.. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2012. v.19, p.257–275.

ANDERSEN, R.A.; KAWACHI, M. Traditional microalgae isolation techniques. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. 2005. cap.6, p.83-100.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, American Public Health Association, Washington, DC. , 2005.

ASLAN, S.; KAPDAN, I.K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**. 2006. v.28, p.64-70.

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

BARREIRO, D.L.; PRINS, W.; RONSSE, F.; BRILMAN, W. Hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae for biofuel production: State of the art review and future prospects. **Biomass and Bioenergy**. 2013. v.53, p.113-127.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond, A. (ed.). **Handbook of microalgal culture**. Blackwell, Oxford, 2004, p.312-351.

BENEMANN, J.R. CO₂ mitigation with microalgae systems. **Energy Conversion and Management**. 1997. v.38, suppl. p.S475-S479.

BICUDO, C.E. de M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil – chave para identificação e descrições**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2005. 489p.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, 1959, v.37, n.8, p.911-917.

BORKENSTEIN, C.G.; KNOBLECHNER, J.; FRÜHWIRTH, H.; SCHAGERL, M. Cultivation of *Chlorella emersonii* with flue gas derived from a cement plant. **Journal Applied Phycology**. 2011. v.23, p.131-135.

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

CAVALCANTI, P.F.F.; HAANDEL, A. van; KATO, M.T.; SPERLING, M. von; LUDUVICE, M.L.; MONTEGGIA, L.O. (2001). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbias por lagoas de polimento**. In: Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.), Projeto PROSAB, Belo Horizonte [s.n.]. cap. 3, p. 105-170.

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae-based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**. 2013. v.78, p.1-10.

CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A.; AISSE, M. M.; CAVALCANTI, P. F. F. Capítulo 7: Reatores Anaeróbios de Manta de Lodo. In: CAMPOS, J. R. (coordenador). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1. ed. Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, 1999. p.155-198.

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

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.8639-8645.

COLLET, P.; HÉLIAS, A.; LARDON, L.; RAS, M.; GOY, R.A.; STEYER, J.P. Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.207-214.

CRAGGS, R.J.; PARK, J.B.K. Algal/bacterial lipid production in wastewater treatment ponds. In: **9th IWA Specialist Group Conference on Waste Stabilisation Ponds**. 1-3 August 2011. (ISBN: 978-1-921335-17-4)

CRUZ, L.S.; JÚNIOR, C.D.; KELLER, R.P.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. Variações Temporais de Parâmetros Físico-Químicos e Fitoplanctônicos em Lagoas Facultativas Operando em Regime de Batelada. In: VI Seminário Estadual Sobre Saneamento e Meio Ambiente, Vitória. **Anais ...**, 2005. v.1.

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**. 2011, v.88, p. 3541-3547.

DUAN, P.; BAI, X.; XU, Y.; ZHANG, A.; WANG, F.; ZHANG, L.; MIAO, J. Non-catalytic hydrolysis of microalgae to produce liquid biofuels. **Bioresource Technology**. 2013. v.136, p.626-634.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. 1956. v.28, n.3, p.350-356.

FENG, Y; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.101-105.

FRIGON, J.C.; MATTEAU-LEBRUN, F.; ABDOU, R.H.; MCGINN, P.J.; O'LEARY, S.J.B.; GUIOT, S.R. Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. **Applied Energy**. 2013. v.108, p.100-107.

GONZÁLEZ, A.C. **Las Chlorococcales dulciacuícolas de Cuba**. Berlin – Stuttgart: Gebrüder Borntraeger, 1996. 192p.

GUILLARD, R.R.L.. Purification methods for microalgae. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.8, p.117-132.

KAPDAN, I.K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme Microbial Technology**. 2006. v.38, p.569–582.

LARKUN, A.W.D.; ROSS, I.L.; KRUSE, O.; HANKAMER, B. Selection, breeding and engineering of microalgae for bioenergy and biofuel production. Review. **Trends in Biotechnology**, 2012. v.30, n.4, p.198-205.

LI, Y.; YI-FENG, C.; CHEN, P.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B. Characterization of microalga *Chlorella* sp. Well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.5138-5144.

LOPES, E.J.; SCOPARO, C.H.G.; QUEIROZ, F.T.T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**. 2010. v.51, p.894-900.

LORENZ, M.; FRIEDL, T.; DAY, J.G. Perpetual maintenance of actively metabolizing microalgal cultures. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.10, p.145-156.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2006. 588p.

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

METTING, F. Biodiversity and application of microalgae. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**. 1996. v.17, p.477–489.

MUTANDA, T.; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.57-70.

NASCIMENTO, M.; MARQUEZ, J.C.F.O.; RIZZA, S.L.; ECHARTE, M.M.; CURATTI, L. Bioprospecting for fast growing and biomass characterization of oleaginous microalgae from South–Eastern Buenos Aires, Argentina. **Bioresource Technology**. 2012. v.125, p. 283–290.

OLIVEIRA, F.F.; GONÇALVES, R.F. **Readaptação de ETEs com lagoas de estabilização a rigorosos padrões de qualidade através de biofiltros aerados submersos**. ENCARTE TECNICO DA REVISTA BIO ENG. SANIT. E AMB. 1996. v.4, n.3, p.46-52.

QIN, J. Bio-hydrocarbons from algae. **Rural Industries Reserch and Development Corporation**. Australian Government. Fev/2005. n.5/025, 18p.

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

REVIERS, B. **Biologia e filogenia das algas**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 280p.

ROUND, F.E. **Biologia das algas**. 2^o ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 1983. p. 1-79.

SCHENK, P.M.; STEPHENS, E.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research**. 2008. v.1, p.20-43.

SIRQUEIRA, D.B.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. **Cianobactérias de águas doce e saúde pública: uma revisão**. Universitas Ciência da Saúde. 2005. v.3, n.1, p.109-127.

SMITH, V.H.; SCHINDLER, D.W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology and Evollution**. 2009. v.24, n.4, p.201-207.

SOUZA, W.G. Associação em série de um reator anaeróbio compartimentado, uma lagoa de polimento e um sistema de pós-tratamento físico-químico para tratamento terciário de esgoto sanitário. **Dissertação**. Vitória: UFES, 2005. 217p.

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

TOMAZ, P. **Poluição difusa**. São Paulo: Editora Navegar. 2006.

VON SPERLING, M.; ANDRADE NETO, C.O.; VOLSCHAN Jr., I.; FLORÊNCIO, L. Impacto dos Nutrientes do Esgoto Lançado em Corpos de Água. In: **Esgoto Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Coord.: Francisco Suetônio Bastos Mota e Marcos von Sperling. Fortaleza: ABES. cap.2, p.26-51, 2009.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG. 2005. v.1, 452p.

WANG, B.; LAN, C.Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.5639–5644.

WATANABE, M. Freshwater culture media. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.2, p.13-20.

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

POTENCIAL DE CRESCIMENTO DE BIOMASSA MICROALGÁCEA EM EFLUENTE DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO COM INSERÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE CO₂

RESUMO

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar o efeito da inserção de diferentes fontes de CO₂ ao cultivo de seis microalgas: *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08, *Tetradismus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente autoclavado de tratamento de esgoto sanitário por UASB. Os resultados demonstraram que houve aumento na produção de clorofila-a para todos os isolados com a inserção de CO₂ aos cultivos. Entre os isolados testados, a *Chlorella* sp. L06 apresentou as melhores taxas de crescimento, com base no teor de clorofila-a, para os cultivos em efluente de UASB autoclavado (EFA) com a inserção de CO₂ atmosférico (5.121,5 µg/L.d), com a adição de 0,15% de CaCO₃ (6.109,5 µg/L.d), 0,25% de NaHCO₃ (9.726,4 µg/L.d), 0,15% de CaCO₃ associada a inserção de CO₂ atmosférico (8.580,9 µg/L.d), e adição de 0,25% de NaHCO₃ associada a inserção de CO₂ atmosférico (6.941,9 µg/L.d).

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de esgoto, biomassa, microalgas, efluente e gás carbônico.

GROWTH POTENTIAL OF MICROALGAEA BIOMASS IN EFFLUENT OF WASTEWATER TREATMENT WITH INSERTING DIFFERENT SOURCES OF CO₂

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the effect of inclusion different sources of CO₂ to six microalgae cultivation: *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08, *Tetradesmus* sp. L09 and a mixed culture in autoclaved wastewater treatment wastewater from UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). The results showed that there was an increase in the production of chlorophyll-a in all isolates with the insertion of CO₂ to culturing. Among the isolates tested, the *Chlorella* sp. L06 showed the best growth rates based on chlorophyll-a, for crops in UASB effluent autoclaved (EFA) with the insert of atmospheric CO₂ (5.121,5 µg/L.d), with the addition of 0,15% CaCO₃ (6.109,5 µg/L.d), 0,25% NaHCO₃ (9.726,4 µg/L.d), 0,15% CaCO₃ associated with the addition of atmospheric CO₂ (8.580,9 µg/L.d) and 0,25% NaHCO₃ associated with the addition of atmospheric CO₂ (6.941,9 µg/L.d).

KEYWORDS: Wastewater treatment, biomass, microalgae, effluent and carbon dioxide.

1 INTRODUÇÃO

As microalgas são organismos capazes de converter a energia luminosa e gás carbônico em biomassa com compostos orgânicos diversificados, tais como proteínas, carboidratos, lipídios e pigmentos em curto período de tempo (Becker, 2004; Brennan e Owende, 2010) e ainda contribuir para retirada de CO₂ atmosférico (Schenk *et al.*, 2008; Lopes *et al.*, 2010; Dermirbas, 2011; Rawat *et al.*, 2011; Devi e Mohan, 2012) e o aproveitamento de CO₂ de queima (Benemann, 1997; Chisti, 2008; Borkenstein, 2011). Esta biomassa pode ser empregada nos mais diferentes processos da engenharia química, ambiental e agrônômica (Borowitzka, 1999).

No entanto, o crescimento de microalgas e/ou cianobactérias em corpos hídricos de água doce pode alcançar a denominada eutrofização, que é caracterizada como o aumento da concentração de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, capaz de aumentar significativamente a produtividade primária do corpo hídrico e pode ser observada em virtude de processos naturais e artificiais. Na maioria dos lagos, fósforo ou nitrogênio são fatores limitantes para o crescimento de organismos fotossintetizantes, e geralmente o fósforo é o elemento chave para o crescimento de algas (Sirqueira e Oliveira-Filho, 2005; Tomaz, 2006; Smith e Schindler, 2009). Segundo von Sperling (2005) a contribuição *per capita* de fósforo no esgoto sanitário, pode chegar a 2,5 g/hab.dia deste nutriente.

Em Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) as microalgas desempenham papel importante em lagoas facultativas, por fornecer oxigênio para as bactérias decompositoras de matéria orgânica. Mas a remoção de algas do efluente final é exigência frequente por parte dos órgãos de controle ambiental no Brasil, sobretudo nas regiões propícias à eutrofização e em áreas urbanizadas. Por isso diversas

tecnologias de polimento deste tipo de efluente foram desenvolvidas (Oliveira e Gonçalves, 1999), objetivando principalmente a remoção de algas (Cruz, 2005). É oportuno citar o aproveitamento da biomassa algácea na geração de metano (Lourenço, 2006) que é uma das alternativas possíveis para a geração de energia alternativa (Holm-Nielsen *et al.*, 2009) em Estações de Tratamento de Esgoto.

Atualmente a perspectiva de produção em larga escala de microalgas para geração de biocombustível é motivada pela sua alta produtividade, a qual pode ser alcançada (Carlsson *et al.*, 2007; Huntley e Redalje, 2007; Wang e Lan, 2011), pois normalmente as microalgas dobram a sua biomassa a cada vinte e quatro horas (Chisti, 2007). No entanto entre as limitações encontradas na produção de microalgas podemos citar os custos com o incremento de CO₂ e de nutrientes ao cultivo (que envolvem cerca de 60% dos custos de produção de biomassa) e os custos com processos de colheita, secagem e extração de óleo, que consomem 30% dos custos de produção (Chisti, 2007).

Para reduzir estes custos de produção, pode-se pensar em utilizar águas residuárias de indústrias e estações de tratamento como fonte de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (Lourenço, 2006; Schenk *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2011) e no aproveitamento do CO₂ da combustão de combustíveis (Huang, 2010). Nessa abordagem o crescimento de microalgas associado a sistemas de tratamento de esgoto, apresenta também outras vantagens, como por exemplo, a melhoria da qualidade final do efluente devido a possível redução dos teores de N e P (Cho *et al.*, 2011; Abdel-Raouf *et al.*, 2012; Razzak *et al.*, 2013), e assim diminui os processos de eutrofização decorrentes do seu lançamento em corpos hídricos receptores.

Um suplemento suficiente de CO₂ ao cultivo é um dos fatores chave no crescimento autotrófico de microalgas (Sawayama *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2013). Segundo Esteves (1998) em meio aquoso, o carbono inorgânico pode estar na forma de CO₂, H₂CO₃ (ácido carbônico), HCO₃⁻ (bicarbonato) ou CO₃²⁻ (carbonato) e suas proporções dependem do pH, sendo que, conforme o aumento deste, as proporções de bicarbonatos e carbonatos aumentam no meio de cultura. Assim, numa cultura com pH ácido ocorre uma maior disponibilidade de CO₂, sendo esta, a fonte de carbono preferida pelas microalgas.

Estas espécies químicas em meio aquoso podem ser consideradas como fontes de carbono para as microalgas. Possíveis inserções de fontes sólidas de CO₂ no cultivo de microalgas podem ser citadas, como exemplo do bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e carbonato de cálcio (CaCO₃). No entanto a solubilidade de substâncias que podem ser utilizadas como fonte de CO₂ também deve ser considerada. A solubilidade em água, à 20 °C do NaHCO₃ é 96 g/L e do CaCO₃ é 0,014 g/L (MERCK, 2010). O bicarbonato de sódio é amplamente comercializado e com boa solubilidade e segundo Cho *et al.* (2011) pode ser utilizado como fonte complementar de fonte de carbono. Já o carbonato de cálcio, embora apresente baixa solubilidade, é resíduo de algumas indústrias ou pode ser obtido pelo borbulhamento de CO₂ em cal (CaO).

As microalgas necessitam de 1,8 a 2,0 kg de CO₂ para formar 1 kg de biomassa (Chisti, 2007). Considerando-se esta relação estequiométrica, a quantidade de CO₂ presente no ar (0,003%v/v) não é suficiente para promover a necessária pressão de gás nas culturas, para propiciar uma absorção de CO₂, capaz de gerar alta produtividade. Assim, os cultivos de microalgas pressupõem uma oferta mínima de 2,0 a 2,5% (v/v) de CO₂ injetado no cultivo (Santos, 2012).

Diversas pesquisas vêm investigando o efeito da inserção de fontes de carbono inorgânico em cultivos de microalgas. Estudos realizados por Ge *et al.* (2011), mostraram que as microalgas podem absorver até 15% de CO₂ do ar injetado nos cultivos, o que indica a possibilidade de aproveitamento de ar da queima de indústrias, que pode chegar até 20% de CO₂, dependendo da tecnologia e do tipo de combustível utilizado. Além disto, pode-se também relacionar a conversão do CO₂ da queima do biogás de reatores anaeróbios tipo UASB, em biomassa microalgácea, para contribuir na atenuação das emissões deste gás.

Assim a proposta desta pesquisa trabalha com a hipótese que é possível otimizar o cultivo de microalgas em efluente do sistema de tratamento anaeróbio de esgoto através da inserção de diferentes fontes de CO₂ no sistema de cultivo, e da utilização de isolados de microalgas adaptadas às condições físico-químicas do efluente de UASB.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Caracterização do efluente de tratamento de esgoto sanitário ETE/UFES por UASB

Para a realização deste Projeto de pesquisa foi utilizado o efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada no Parque Experimental do Núcleo Água – Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, no Campus Universitário de Goiabeiras – Vitória. Este sistema de tratamento de esgoto é composto de um Reator Anaeróbio do tipo UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket* – Reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente) e recebe esgoto numa vazão de até 0,5 L/s do Bairro Jardim da Penha,

do município de Vitória, Espírito Santo. As análises físico-químicas do efluente foram realizadas no Laboratório de Saneamento (LABSAN) no Centro Tecnológico do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Vitória-ES.

Para a manutenção das estirpes de microalgas e realização dos experimentos foi necessário que o meio de cultivo, neste caso o efluente de UASB, estivesse estéril. No entanto o método de esterilização utilizado, a autoclavagem, pode promover alterações físico-químicas no meio. Portanto, o efluente do UASB natural (EFN) e o efluente do UASB autoclavado (EFA) foram caracterizados quanto aos parâmetros físico-químicos, pH, turbidez, DQO, DBO₅, sólidos voláteis (SV), fósforo total e nitrogênio-NTK, pelos métodos analíticos segundo a 21^a Edição do *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50).

2.2 Preparo do inóculo misto

Para realização dos experimentos com a denominada “cultura mista” foi produzido, com 8 (oito) dias de antecedência, o denominado “inóculo misto”. Acondicionou-se, em erlenmeyer de 1 (um) litro de capacidade, 0,5 litro de efluente de UASB, seguido de biofiltro aerado submerso e um decantador, e em seguida foi submetido ao crescimento das microalgas naturalmente presentes neste efluente, sob as mesmas condições de cultivo em que foi realizado o experimento a que se destinou o ‘inóculo misto’.

2.3 Testes das adições de fontes sólidas de CO₂

Primeiramente foi realizado o teste, sob condições naturais de temperatura e luminosidade (luz solar indireta), que serviu como *screening* para escolha das faixas de concentrações das fontes sólidas de CO₂ aplicáveis ao cultivo de microalgas. Foram utilizados erlenmeyers de 125 mL, contendo 100 mL de EFN e aplicados os seguintes tratamentos: adição de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) nas concentrações de 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 %p/v, e adição de carbonato de cálcio (CaCO₃) nas concentrações de 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 %(p/v). E em seguida cada erlenmeyer foi inoculado com 0,5 mL de “inóculo misto”. Foram tomadas amostras para medição do pH e da turbidez (APHA, 2005) para cada tratamento, logo após a inoculação e após 8 (oito) dias de cultivo.

Após a realização do ‘*screening*’ foi realizado outro experimento para identificar a melhor concentração de NaHCO₃ e de CaCO₃ a ser adicionado ao cultivo de microalgas em EFN. Foram utilizados 600 mL de EFN em erlenmeyer de 1 (um) litro de capacidade e adicionadas diferentes concentrações das fontes sólidas de CO₂, que resultou nos tratamentos descritos na tabela II.1. Cada tratamento foi inoculado com 1 (um) mL de “inóculo misto” de microalgas, e realizado em três repetições.

Tabela II.1 Descrição dos tratamentos de adição de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) e de carbonato de cálcio (CaCO₃) como fonte de carbono ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB natural (EFN).

| Fonte sólida de CO ₂ | | Concentrações | | | | |
|---------------------------------|------|---------------|------|------|------|------|
| NaHCO ₃ | %p/v | 0 | 0,25 | 0,50 | 0,75 | 1,00 |
| | mM | 30 | 60 | 90 | 90 | 120 |
| CaCO ₃ | %p/v | 0 | 0,05 | 0,10 | 0,15 | 0,20 |
| | mM | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 |

Durante o cultivo foram tomadas amostras a cada quarenta e oito horas, durante 12 (doze) dias para medição de pH, turbidez, clorofila-a (APHA, 2005) e clorofila-a *in vivo*, em um fluorímetro portátil da marca Aquafluortm. O experimento foi conduzido sob condições laboratoriais à temperatura ambiente (18 a 31°C) e iluminação artificial com lâmpadas brancas fluorescentes, o que resultou numa luminosidade média de 4.700 lx com fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). Esta luminosidade é semelhante à utilizada em experimentos de bancada realizados por Aslan e Kapdan (2006) e também por Feng *et al.* (2011).

2.4 Efeito da adição de diferentes fontes de CO₂ no cultivo de microalgas em efluente

Para avaliação do efeito de inserção de diferentes fontes de CO₂ nas taxas de crescimento, foram utilizados 6 (seis) estirpes de microalgas e um cultivo misto, obtidos do sistema de tratamento de esgoto ETE/UFES, no Laboratório de Saneamento do Centro Tecnológico do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo.

Os seis isolados foram identificados como: *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradesmus* sp. L09. Foram utilizados erlenmeyers de 2 (dois) litros de capacidade como fotobiorreatores fechados contendo 1,6 litros de EFA (Figura II.1). E aplicados os tratamentos de inserção de diferentes fontes de CO₂ que estão descritos na tabela II.2. Cada tratamento foi repetido três vezes.

Como meio de cultivo sintético de referência foi utilizado o meio CHU-ES (efluente sintético), que foi preparado através da adaptação do meio CHU (Andersen, 2005),

para conter as quantidades de nitrogênio e de fósforo semelhantes as concentrações presentes no efluente de UASB. Sendo elas, 27 mg/L nitrogênio (2/3 de N-NH₄ e 1/3 N-NO₃) e de 5 mg/L de fósforo. A composição de meio CHU-ES final por litro foi de 55,0 mg de NaNO₃; 25,0 mg de CaCl₂.2H₂O; 75,0 mg de MgSO₄.7H₂O; 7,5 mg de K₂PO₄; 17,5 mg de KH₂PO₄; 50,0 mg de Na₂EDTA; 31,0mg de KOH; 4,98mg de FeSO₄.7H₂O; 11,42mg de H₃BO₃; 8,82μg de ZnSO₄.7H₂O; 1,44μg de MnCl₂.4H₂O; 0,71μg de MoO₃; 1,57μg de CuSO₄.5H₂O; 0,49μg de Co(NO₃)₂.6H₂O, e após a autoclavagem e o resfriamento foram acrescentados 70 mg de NH₄Cl filtrado em membrana 0,45μm. O pH do meio foi corrigido para valores entre 7,0 e 7,2 utilizando-se solução de HCl ou NaOH.

Tabela II.2 Descrição dos tratamentos de adição de diferentes fontes de CO₂ ao cultivo das microalgas: *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradesmus* sp. L09, e de um cultivo misto, em efluente de UASB autoclavado, em laboratório.

| Tratamentos | Meio de cultivo |
|-------------|--|
| TR | Meio CHU-ES (CHU-efluente sintético) |
| T0 | Efluente de UASB autoclavado (EFA) |
| T1 | EFA + CO ₂ atmosférico* |
| T2 | EFA + 0,25 %p/v de NaHCO ₃ |
| T3 | EFA + 0,15 %p/v de CaCO ₃ |
| T4 | EFA + CO ₂ atmosférico + 0,25 %p/v NaHCO ₃ |
| T5 | EFA + CO ₂ atmosférico + 0,15 %p/v de CaCO ₃ |

*A inserção de CO₂ atmosférico no cultivo foi constituído de um sistema de injeção de ar com filtro de linha.

Durante o cultivo foram tomadas amostras a cada 24 (vinte e quatro) horas, durante 21 (vinte e um) dias para medição de clorofila-a *in vivo* com o fluorímetro portátil da marca Aquafluortm. No momento da inoculação e após 3, 5, 10, 15 e 21 dias foram medidos os teores de sólidos voláteis e pH (APHA, 2005).

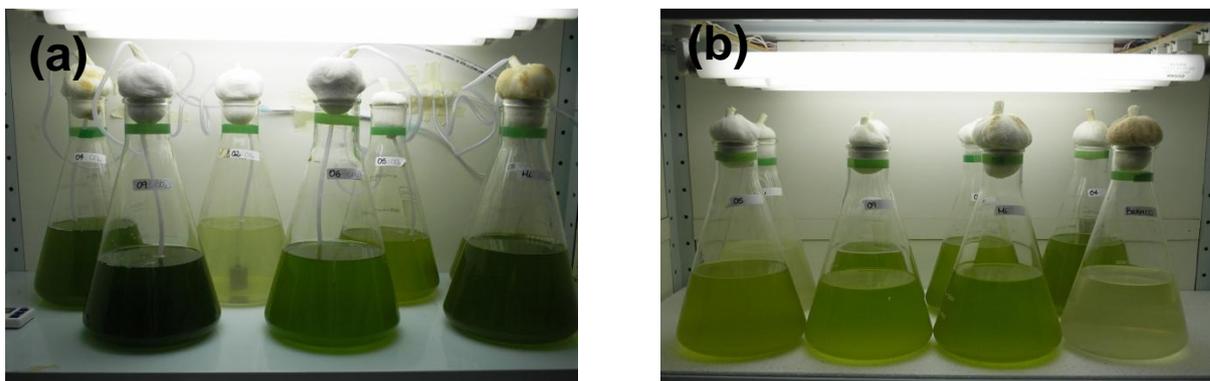


Figura II.1 Sistema utilizado no cultivo de *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04, *Coccomyxa* sp. L05, *Chlorella* sp. L06, *Scenedesmus* sp. L08, *Tetradismus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente de UASB com adição de diferentes fontes de CO₂, à temperatura ambiente, luminosidade média 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h: **(a)** com sistema de inserção de CO₂ atmosférico e **(b)** sem sistema de inserção de CO₂ atmosférico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química do efluente de tratamento de esgoto em reator tipo UASB.

Os resultados das análises físico-química de amostras de efluente de UASB natural (EFN) e de efluente de UASB autoclavado (EFA), descritos na tabela II.3, demonstraram que o efluente de UASB após a autoclavagem, apresentou um aumento nos valores do pH de 7,0 para 10,0 e na turbidez de 80,2 para 101,7 NTU. Também foi observada redução nos valores de DBO₅ de 70,0 mg/L para 42,7 mg/L e nos de nitrogênio-NTK de 28,0 mg/L para 23,5 mg/L. Esta redução de nitrogênio está relacionada a perdas de íon amônio (NH₄⁺) na forma de amônia (NH₃) pelo aquecimento e associada também ao aumento de pH. Segundo Von Sperlling *et al.* (2009) em condições de elevado pH, em torno de 9,5, mais de 50 % do íon NH₄⁺ presente é convertido no gás NH₃, que tende a se desprender da massa líquida, num processo denominado volatilização da amônia, considerando a seguinte equação de equilíbrio químico: NH₃ + H⁺ ↔ NH₄⁺.

Tabela II.3 Caracterização físico-química do efluente de UASB natural e após a autoclavagem ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| | pH | Turbidez | DQO | DBO ₅ | SV | Fósforo Total | N-NTK |
|---|----------|-----------|------------|------------------|------------|---------------|----------|
| | | NTU | mg/L | mg/L | mg/L | mgP/L | mgN/L |
| Efluente de UASB Natural (EFN) | 7,6±0,0 | 80,2±0,4 | 207,9±16,7 | 70,0±2,0 | 162,7±44,0 | 5,0±0,7 | 28,0±1,5 |
| Efluente de UASB Autoclavado (EFA) | 10,0±0,0 | 101,7±1,2 | 162,7±10,5 | 42,7±10,3 | 157,3±23,9 | 5,6±0,6 | 23,5±1,4 |

Após a autoclavagem do efluente de UASB e seu resfriamento foi observada a presença de precipitados no recipiente. É possível atribuir este fato ao pH elevado (10,0) que implica em mudança do equilíbrio das espécies de fosfatos (PO_4^{-3}), o que pode resultar na precipitação de sais insolúveis de fosfato, na forma de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$) e a estruvita ($\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$) (Cavalcanti *et al.*, 2001). Sendo o nitrogênio e o fósforo, os nutrientes prioritários no cultivo das microalgas, pode-se afirmar que mesmo com as alterações nos teores destes nutrientes, após a autoclavagem do efluente de UASB, o EFA apresentou potencial para produção de biomassa microalgácea sem perder a representatividade do efluente de UASB natural.

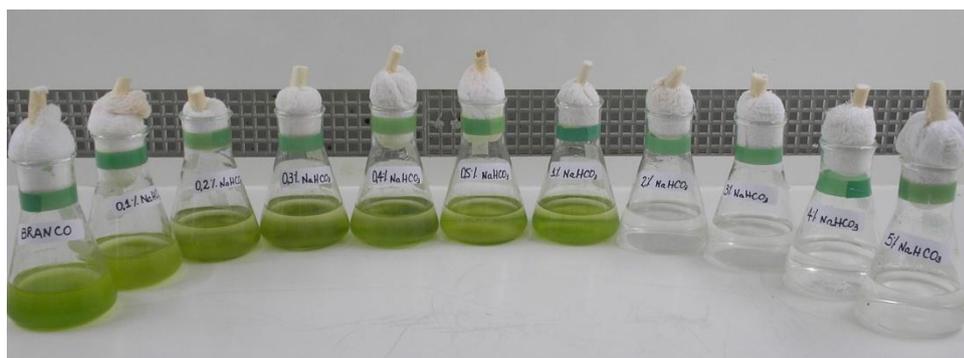
3.2 Efeito da adição de fontes sólidas de CO_2 ao cultivo de microalgas em efluente de UASB

Os resultados dos testes realizados para ‘*screening*’ das faixas adequadas de concentrações de NaHCO_3 e CaCO_3 para adição ao cultivo de microalgas demonstraram que a adição de até 5,0% de bicarbonato de sódio ao EFN não alterou a turbidez do meio, e não ultrapassou o valor de 10 NTU (Figura II.2). No

entanto, observou-se que concentrações a partir de 2%, inibiram o crescimento de microalgas por até 8 (oito) dias de cultivo, sendo que as concentrações de 0,5 e 1,0%p/v já demonstraram indícios de redução do crescimento, considerando o parâmetro turbidez. Esta inibição deve ser atribuída a possíveis alterações fisiológicas devido o efeito da pressão osmótica do meio com o aumento de íons Na^+ oriundos da dissociação do NaHCO_3 .

Para os resultados obtidos com a adição de CaCO_3 ao EFN (Figura II.3), observou-se que houve aumento na turbidez. Os valores de turbidez ultrapassaram o limite de detecção do turbidímetro utilizado (1000 NTU) quando as concentrações foram iguais ou acima de 0,20%p/v. No entanto a elevada turbidez devido a adição de CaCO_3 desaparece com a sua decantação, por se tratar de um sal com baixa solubilidade.

Quanto ao crescimento das microalgas não foi observada inibição de crescimento de microalgas entre as percentagens de CaCO_3 testadas. Este fato permite a utilização do CaCO_3 como uma fonte de CO_2 reserva na forma sólida ao cultivo de microalgas, desde que esteja depositado em local de baixa turbulência. Assim CaCO_3 se mostra como uma forma alternativa de fonte de carbono, pois possibilita sua formação pelo armazenamento de CO_2 liberado da combustão em indústrias através da reação com “água de cal” (CaO) que é um produto relativamente barato e que em fábricas de celulose e papel, é um resíduo na forma de “lama de cal”.



| | | %p/v de Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) | | | | | | | | | | |
|----------------|---------|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| pH | t=0dia | 7,9 | 8,2 | 8,3 | 8,3 | 8,3 | 8,3 | 8,3 | 8,2 | 8,2 | 8,1 | 8,1 |
| | t=8dias | 9,0 | 9,6 | 9,6 | 9,5 | 9,7 | 9,5 | 9,5 | 9,2 | 9,3 | 9,4 | 9,2 |
| Turbidez (NTU) | t=0dia | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 5 | 6 | 7 |
| | t=8dias | 5 | 54 | 29 | 60 | 66 | 22 | 13 | 3 | 3 | 4 | 8 |

Figura II.2 Teste das concentrações de **bicarbonato de sódio** (NaHCO₃) a ser adicionado como fonte sólida de CO₂ ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB, à temperatura ambiente e luz solar indireta.



| | | % p/v de Carbonato de cálcio (CaCO ₃) | | | | | | | | | | |
|----------------|---------|---|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 1,0 | 2,0 | 3,0 | 4,0 | 5,0 |
| pH | t=0 dia | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 8,0 | 7,9 | 7,9 | 7,9 | 7,9 | 7,9 |
| | t=8dias | 9,0 | 8,6 | 9,1 | 9,2 | 9,2 | 9,1 | 9,2 | 9,2 | 9,3 | 9,1 | 9,0 |
| Turbidez (NTU) | t=0dia | 2 | 483 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| | t=8dias | 5 | 621 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |

Figura II.3 Teste das concentrações de **carbonato de cálcio** (CaCO₃) a ser adicionado como fonte sólida de CO₂ ao cultivo misto de microalgas em efluente de UASB, à temperatura ambiente e luz solar indireta.

De acordo com os resultados apresentados acima, foram definidas a adição de concentrações igual ou inferiores a 2,0 %p/v de NaHCO_3 e de concentrações igual ou inferiores a 0,20%p/v de CaCO_3 ao EFN para realização do experimento seguinte. Os resultados de clorofila-a obtidos ao longo do cultivo permitiram traçar a curva de crescimento das microalgas. Para o experimento com diferentes concentrações de NaHCO_3 , observou-se que as concentrações de 0,25 e 0,50% apresentaram os melhores teores de clorofila-a entre o 4º e o 6º dia (Figura II.4). A concentração de 0,25%p/v sustentou uma produção de $3.229,0 \pm 580,4 \mu\text{g/L}$ até o 8º dia de cultivo (Apêndice II.9), e em seguida apresentou queda nos teores de clorofila-a, o que indicou a redução de células vivas de microalgas por consumo dos nutrientes disponíveis no EFN. Comportamentos semelhantes foram observados no cultivo com 0, 0,50 e 0,75%p/v de NaHCO_3 .

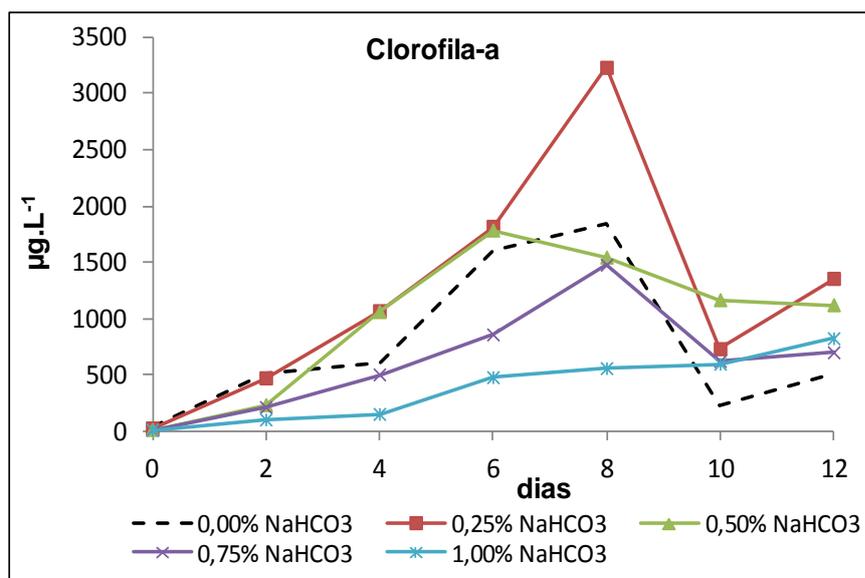


Figura II.4 Resultados de clorofila-a do cultivo misto de microalgas no ensaio da adição de diferentes concentrações de **bicarbonato de sódio** (NaHCO_3) em efluente de UASB, sob à temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

Os valores de pH apresentaram um pequeno aumento com adição de NaHCO_3 de 7,7 para 8,3 com pH ao final do cultivo variando entre 9,5 a 9,9. A turbidez não apresentou alteração com adição do NaHCO_3 e registraram-se valores iniciais entre 6,6 a 7,3 NTU e valores finais de 212,3 a 296,3 NTU (Tabela II.4). (Apêndices II.10 e II.11)

Tabela II.4 Médias de pH e turbidez para cultivo misto de microalgas em efluente de UASB natural (EFN) com adição de diferentes concentrações de **bicarbonato de sódio** (NaHCO_3) sob condições laboratoriais ($x \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| %p/v | pH | | Turbidez (NTU) | |
|------------------------|---------------|---------------|----------------|-------------------|
| | 0 dia | 12 dias | 0 dia | 12 dias |
| 0,00% NaHCO_3 | 7,7 \pm 0,1 | 9,5 \pm 0,1 | 7,3 \pm 0,8 | 237,0 \pm 16,7 |
| 0,25% NaHCO_3 | 8,2 \pm 0,0 | 9,9 \pm 0,2 | 7,3 \pm 0,3 | 292,3 \pm 144,1 |
| 0,50% NaHCO_3 | 8,3 \pm 0,0 | 9,8 \pm 0,0 | 6,9 \pm 0,5 | 296,3 \pm 187,3 |
| 0,75% NaHCO_3 | 8,3 \pm 0,0 | 9,7 \pm 0,0 | 7,0 \pm 0,8 | 212,3 \pm 108,2 |
| 1,00% NaHCO_3 | 8,3 \pm 0,0 | 9,6 \pm 0,0 | 6,6 \pm 0,9 | 217,7 \pm 73,4 |

Para o cultivo com a adição de carbonato de cálcio, observou-se que os teores de clorofila-a ficaram próximos entre as concentrações adicionadas durante o período de cultivo (Figura II.5). Os valores de pH não sofreram alterações com adição de carbonato de cálcio ao EFN, variando em torno de 9,3 e ao final do cultivo o pH aumentou para valores em torno de 10,9. Este aumento de pH está relacionado ao consumo de CO_2 no meio pelo crescimento de microalgas, que descolam o equilíbrio dos íons carbonatos no meio aquoso, elevando o pH (Souza, 2005).

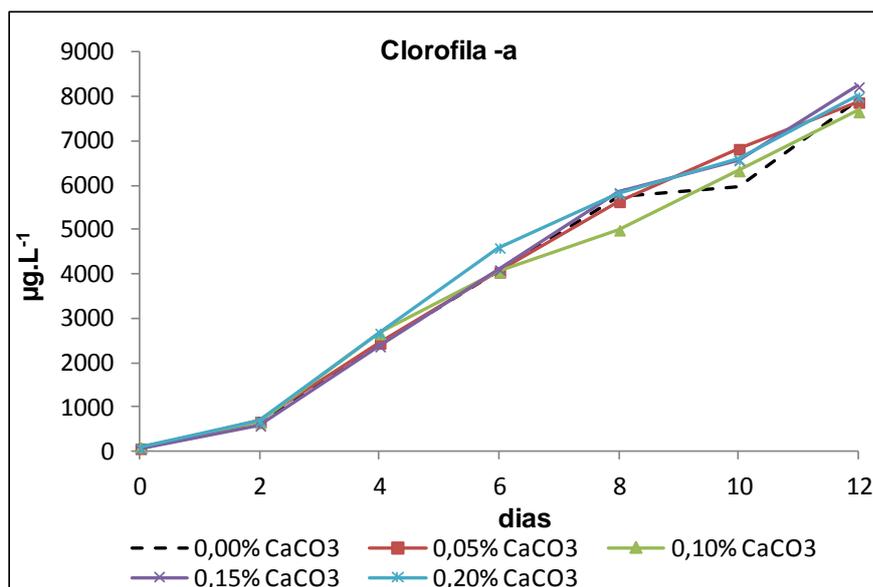


Figura II.5 Resultados de clorofila-a do cultivo misto de microalgas com a adição de diferentes concentrações de **carbonato de cálcio** (CaCO_3) em efluente de UASB, à temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

No início do cultivo, o aumento da turbidez do EFN foi diretamente relacionado ao aumento da concentração de CaCO_3 adicionado (Tabela II.5), e ao final do experimento, os cultivos com adição de CaCO_3 ultrapassaram o valor de >1000 NTU.

Tabela II.5 Médias de pH e turbidez para cultivo misto de microalgas em efluente de UASB natural (EFN) com adição de diferentes concentrações de carbonato de cálcio (CaCO_3) sob condições laboratoriais ($\bar{x} \pm \text{desvio padrão}$, $n=3$).

| %p/v | pH | | Turbidez (NTU) | |
|-----------------------|---------|----------|----------------|--------|
| | 0 dia | 12 dia | 0 dia | 12 dia |
| 0,00% CaCO_3 | 9,3±0,0 | 10,9±0,0 | 74±6 | 877±51 |
| 0,05% CaCO_3 | 9,4±0,0 | 10,9±0,0 | 368±5 | >1000 |
| 0,10% CaCO_3 | 9,3±0,0 | 10,8±0,1 | 685±13 | >1000 |
| 0,15% CaCO_3 | 9,3±0,0 | 10,8±0,1 | 984±6 | >1000 |
| 0,20% CaCO_3 | 9,3±0,0 | 10,8±0,1 | >1000 | >1000 |

(Apêndices II.12 a II.14)

Os valores de clorofila-a obtidos pelo método da extração com acetona (APHA, 2005) e os obtidos por clorofila-a *in vivo* durante este experimento apresentaram uma correlação de 91,21% (Apêndice II.15). Assim passou-se a utilizar o fluorímetro para quantificar clorofila-a *in vivo* nos experimentos seguintes, pela praticidade e eficiência demonstradas na comparação entre os métodos.

3.4 Efeito da inserção de diferentes fontes de CO₂ no cultivo dos isolados de microalgas em efluente de UASB autoclavado

O teores de clorofila-a obtidos para o cultivo em EFA com a adição de diferentes fontes de CO₂ demonstraram que a microalga *Desmodesmus* sp. L02 apresentou a menor produção quando comparada às demais microalgas em todos os cultivos realizados com EFA (Figura II.6). Por sua vez a *Chlorella* sp. L06 apresentou os maiores valores de produção de clorofila-a, e alcançou os valores máximos de 50.630,0±4.277,3 µg/L ao 21º dia de cultivo em EFA; 74.134,4±11.627,1 µg/L no 17º dia de cultivo em EFA com inserção de CO₂; de 83.307,8±2.584,4 µg/L no 15º dia de cultivo em EFA com adição de 0,15% de CaCO₃; de 90.450,0±7.105,9 µg/L no 10º dia de cultivo com adição de 0,25% de NaHCO₃; de 110.553,3±11.462,5 µg/L no 14º dia de cultivo com adição de CaCO₃ e CO₂ atmosférico e de 119.963,3±5.766,8 µg/L no 21º dia de cultivo em EFA com adição de 0,25% de NaHCO₃ e CO₂ atmosférico. Este último valor de clorofila-a equivale a 2,4 vezes mais o máximo obtido no cultivo em EFA e 129 vezes mais que no meio CHU-ES para o isolado *Chlorella* sp. L06.

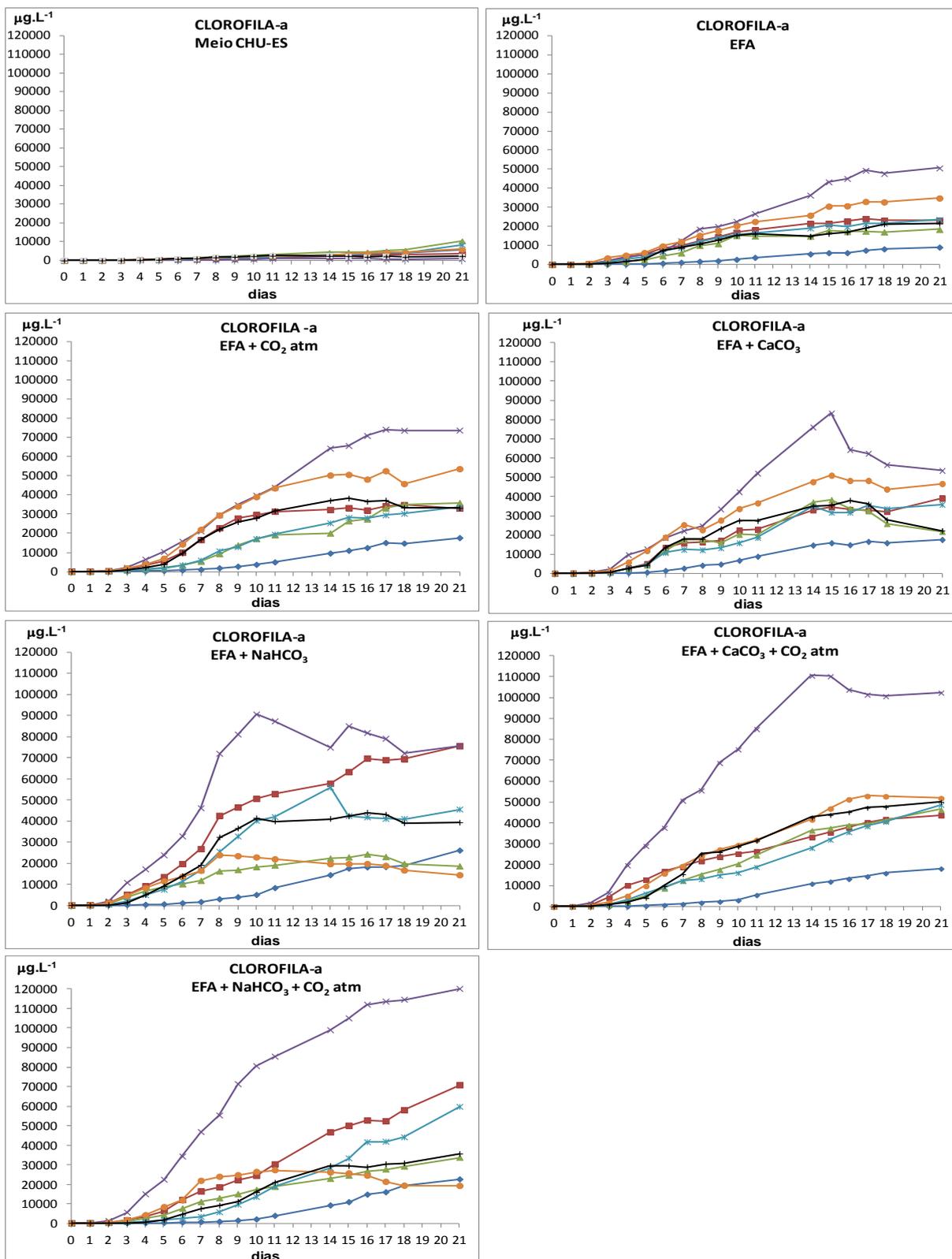


Figura II.6 Curvas de crescimento com base no teor de clorofila-a dos isolados de microalgas em efluente de tratamento de esgoto por UASB, por tratamento de inserção de diferentes fontes de CO₂ sob temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h. (♦) *Desmodesmus* sp. L02; (■) *Chlorococcum* sp. L04; (▲) *Coccomyxa* sp. L05; (×) *Chlorella* sp. L06; (*) *Scenedesmus* sp. L08; (●) *Tetradesmus* sp. L09; (+) Cultivo misto. (Apêndices II.16 a II.22)

Estudos realizados por Godos *et al.* (2010), demonstraram que a adição de 5,5 L/min de gás enriquecido com 7% CO₂ em uma lagoa de alta taxa, resulta no aumento de 30% da concentração de biomassa algácea. Estudo similar foi desenvolvido por Park *et al.* (2011), e a adição de CO₂ resultou em aumento superior a 30% na produção de biomassa e a manutenção do pH < 8 reduziu a perda de nitrogênio na forma de amônia. Jiang *et al.* (2011) cultivaram a microalga marinha *Nannochloropsis* sp. em esgoto urbano com água marinha na proporção de 1:1, e obteve um aumento da concentração de biomassa de 0,39 g/L para 1,43 g/L quando injetou 15% de CO₂ no cultivo.

E Cho *et al.*, (2011), observaram o crescimento gradativo de *Chlorella* sp. 227, cultivada em efluente de tratamento de esgoto sanitário com diferentes tipos de pré-tratamentos e com adição de 250 mM de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) como fonte de carbono, e concluiu que o efluente apresenta componentes disponíveis necessários para o crescimento de microalgas, sem adição externa de nutrientes.

Os resultados de valores de pH (Vide Apêndice II.23) no cultivo dos isolados de microalgas em diferentes fontes de CO₂, variaram de 8,4 a 9,1 logo após a inoculação e de 9,2 a 10,3 após 21 dias de cultivo (Tabela II.6). Porém o aumento do pH no cultivo não foi limitação para o crescimento das microalgas. Este processo pode ser explicado devido ao consumo de CO₂ pelas microalgas durante a atividade fotossintética, que altera o equilíbrio dos íons HCO₃⁻ e eleva o pH. O meio CHU-ES apresentou um pequeno aumento de pH para os cultivos, porém com pequena queda após 10 (dez) dias para os cultivos de *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetrademus* sp. L09 (Figura II.9).

3.5 Efeito da inserção de diferentes fontes de CO₂ nas taxas de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado

Para comparação entre os tratamentos de adição de diferentes fontes de CO₂ foram calculadas as taxas de crescimento com base nos resultados de clorofila-a e de sólidos voláteis (Apêndices II.25 a II.38). O meio CHU-ES, utilizado como referência, apresentou os menores valores de taxas de crescimento, seja com base em clorofila-a (Tabela II.6) ou em sólidos voláteis (Tabela II.7), para todos os isolados, quando comparado com os cultivos em EFA sem ou com adição de diferentes fontes de CO₂. Com base nestes resultados, pode-se afirmar que os inóculos utilizados no experimento, já apresentavam uma adaptação natural às características físico-químicas do efluente de UASB que foi utilizado como meio de cultivo, uma vez que estas microalgas foram oriundas de efluente de um sistema de tratamento de esgoto sanitário.

Entre os tratamentos, os resultados das taxas de crescimento com base em clorofila-a, para o teste realizado com a inserção de 0,25% de NaHCO₃ ao EFA, apresentaram o valor máximo, 9.726,4 µg/L.d de clorofila-a, no cultivo do isolado *Chlorella* sp. L06, seguido pelo teste com a adição de 0,15% de CaCO₃ associada a inserção de CO₂ atmosférico, 8.580,9 µg/L.d para o mesmo isolado.

Observou-se ainda que entre os isolados de microalgas, a *Coccomyxa* sp. L05 apresentou uma ligeira redução na taxa, quando comparados os valores do cultivo em EFA e do cultivo em EFA com adição de 0,25% de NaHCO₃, de 1.675,0 para 1.637,5 µg/L.d. No cultivo desta microalga em EFA com adição de 0,25% de NaHCO₃ e inserção de CO₂ observou-se um incremento de apenas 8,3% na taxa de

crescimento, de 1.675,0 para 1.813,6 $\mu\text{g/L.d}$. Estes resultados indicaram que este isolado não respondeu positivamente à adição de NaHCO_3 .

Entre os isolados, a *Chlorella* sp. L06 destacou-se com as maiores taxas de crescimento no cultivo em EFA dentro de cada tratamento, com e sem adição de fontes de CO_2 . O cultivo desta microalga respondeu positivamente aos testes com a adição de: CO_2 atmosférico; 0,15% de CaCO_3 ; 0,25% de NaHCO_3 ; 0,15% de CaCO_3 associada a inserção de CO_2 atmosférico e 0,25% de NaHCO_3 associada a inserção de CO_2 atmosférico, com incrementos de 55,8%, 85,9%, 195,9%, 161,1% e de 111,2% nas taxas de crescimentos com base em clorofila-a, respectivamente.

Quando analisados os valores das taxas de crescimento com base em sólidos voláteis (Tabela II.8) para os cultivos em EFA, realizados com a adição de 0,25% de NaHCO_3 , o isolado *Desmodesmus* sp. L02 apresentou a maior taxa de crescimento, 27,19 mg/L.d , embora a taxa de crescimento com base em clorofila-a para a mesma microalga foi a menor entre os isolados, 1.460,2 $\mu\text{g/L.d}$. Pode-se afirmar que seu crescimento está refletido em biomassa, pelo tamanho médio celular de 22 μm sem considerar seus espinhos. A *Chlorella* sp. L06 apresentou diâmetros em torno de 6 μm , conforme medições realizadas ao microscópio óptico no Laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Federal da Bahia.

Tabela II.6 Taxas de crescimento, com base em clorofila-a, dos seis isolados e um cultivo misto de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto do UASB com adição de diferentes fontes de CO₂ sob condições de temperatura ambiente (18 a 31°C), luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

| INÓCULO | TAXAS - Clorofila-a (µg/L.d) | | | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|---------|---------------------|-------------------------|--------------------------|---|--|
| | CHU-ES | EFA | CO ₂ atm | 0,15% CaCO ₃ | 0,25% NaHCO ₃ | 0,15% CaCO ₃ + CO ₂ atm | 0,25% NaHCO ₃ + CO ₂ atm |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 374,5 | 532,7 | 1.040,7 | 1.188,2 | 1.460,2 | 1.158,5 | 1.344,0 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 185,3 | 1.615,3 | 3.658,9 | 2.177,3 | 4.223,9 | 2.444,5 | 3.771,0 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 372,2 | 1.675,0 | 2.160,4 | 2.860,4 | 1.637,5 | 2.683,5 | 1.813,6 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 241,0 | 3.286,9 | 5.121,5 | 6.109,5 | 9.726,4 | 8.580,9 | 6.941,9 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 299,1 | 1.474,3 | 2.077,7 | 2.427,7 | 4.726,8 | 2.540,8 | 3.080,2 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 306,5 | 2.165,0 | 4.575,0 | 3.911,4 | 2.919,8 | 3.537,2 | 3.280,0 |
| Cultivo Misto | 332,7 | 1.268,5 | 3.382,6 | 2.865,8 | 5.003,1 | 3.408,5 | 2.192,8 |

Tabela II.7 Taxas de crescimento, com base em sólidos voláteis, dos seis isolados e um cultivo misto de microalgas cultivadas em efluente de tratamento de esgoto do UASB com adição de diferentes fontes de CO₂ sob condições de temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

| INÓCULO | TAXAS - Sólidos Voláteis (mg/L.d) | | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------------|-------|---------------------|-------------------------|--------------------------|---|--|
| | CHU-ES | EFA | CO ₂ atm | 0,15% CaCO ₃ | 0,25% NaHCO ₃ | 0,15% CaCO ₃ + CO ₂ atm | 0,25% NaHCO ₃ + CO ₂ atm |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 2,41 | 10,30 | 12,80 | 17,25 | 27,19 | 11,69 | 13,80 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 9,14 | 10,35 | 17,62 | 21,64 | 24,74 | 12,56 | 18,72 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 2,04 | 8,41 | 13,10 | 19,91 | 15,91 | 15,06 | 13,55 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 1,42 | 10,54 | 15,67 | 22,12 | 22,70 | 17,04 | 19,33 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 1,45 | 9,78 | 15,20 | 18,78 | 26,97 | 10,68 | 15,99 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 7,08 | 10,89 | 16,46 | 21,30 | 17,58 | 13,62 | 18,85 |
| Cultivo Misto | 3,06 | 9,20 | 13,54 | 19,05 | 29,19 | 10,33 | 9,49 |

Com os resultados das taxas de crescimento foram construídos os gráficos *box-plot*. Os maiores valores de mediana das taxas de crescimento com base em clorofila-a (Figura II.7) e sólidos voláteis (Figura II.8), foram de 4.223,9 µg/L.d e de 24,7 mg/L.d, respectivamente, quando os cultivos foram realizados com a adição de 0,25% de NaHCO₃. Isto corresponde a aproximadamente 2,6 vezes a mediana da taxa de crescimento com base em clorofila-a (1.615,3 µg/L.d) e 2,4 vezes a taxa com base em sólidos voláteis (10,3 mg/L.d) quando o cultivo foi realizado em EFA sem adição de CO₂.

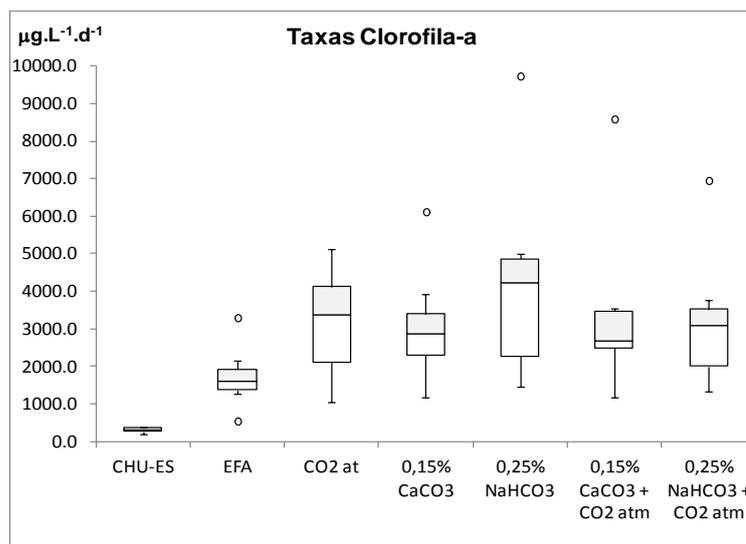


Figura II.7 Box-plot das taxas de crescimento, com base em clorofila-a, do cultivo de *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente UASB autoclavado com a adição de diferentes fontes de CO₂, sob temperatura ambiente, luminosidade de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

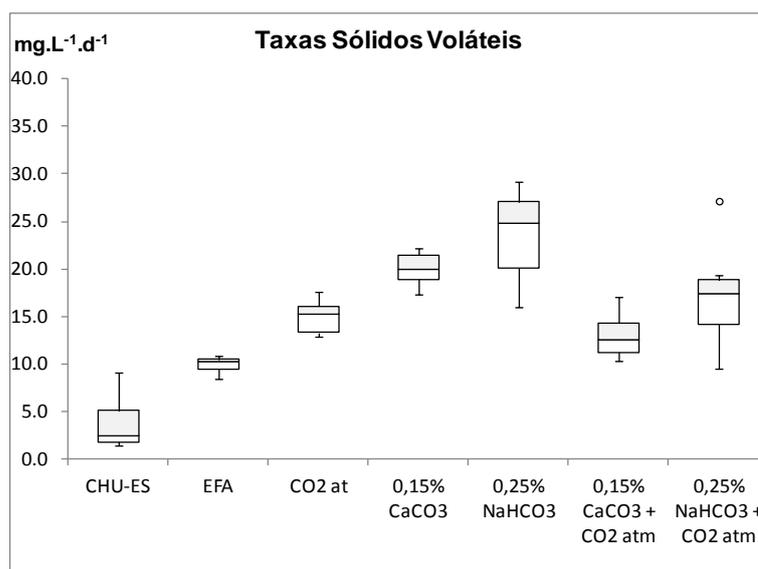


Figura II.8 Box-plot das taxas de crescimento, com base em sólidos voláteis do cultivo de *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente de UASB com a adição de diferentes fontes de CO₂, sob temperatura ambiente, luminosidade de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).

4 CONCLUSÃO

O crescimento das microalgas *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09 em efluente de UASB autoclavado foi superior ao cultivo em efluente sintético CHU-ES. E que o cultivo em EFA apresentou aumento na produção de clorofila-a com a adição de CO₂ ao EFA. Entre as fontes de CO₂, a adição de 0,25% de NaHCO₃ destacou-se com as melhores taxas de crescimento com base em clorofila-a, exceto para a microalga *Coccomyxa* sp. L05. Entre os isolados, a *Chlorella* sp. L06 apresentou a melhor adaptabilidade ao cultivo em EFA sob condições laboratoriais e apresentou os maiores incrementos nas taxas de crescimento com base em clorofila-a com a inserção de CO₂ ao cultivo.

5 AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio institucional, em especial ao LABSAN (Laboratório de Saneamento) onde foram realizados os experimentos e análises, ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de Doutorado e a Cesan (Companhia Espírito Santense de Saneamento) pela colaboração na realização deste Projeto.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A.A.; IBRAHEEM, I.B.M.. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2012. v.19, p.257–275.

ANDERSEN, R.A. **Algal Culturing Techniques**. Elsevier Academic Press, 2005. 578p.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, American Public Health Association, Washington, DC. , 2005.

ASLAN, S.; KAPDAN, I.K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**. 2006. v.28, p.64-70.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond, A. (ed.). **Handbook of microalgal culture**. Blackwell, Oxford , 2004, p.312-351.

BENEMANN, J.R. CO₂ mitigation with microalgae systems. **Energy Conversion and Management**. 1997. v.38, suppl. p.S475-S479.

BORKENSTEIN, C.G.; KNOBLECHNER, J.; FRÜHWIRTH, H.; SCHAGERL, M. Cultivation of *Chlorella emersonii* with flue gas derived from a cement plant. **Journal Applied Phycology**. 2011. v.23, p.131-135.

BOROWITZKA M.A. Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. In: Cohen Z, editor. **Chemicals from microalgae**. Taylor & Francis; 1999. p. 313–52.

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

CARLSSON, A.S.; VAN BEILEN, J.B.; MÖLLER, R.; UND CLAYTON, D. **Micro- and Macro-Algae: Utility for industrial applications**. D. Bowles, University of New York. 2007.

CAVALCANTI, P.F.F.; HAANDEL, A. van; KATO, M.T.; SPERLING, M. von; LUDUVICE, M.L.; MONTEGGIA, L.O. (2001). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por lagoas de polimento**. In: Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.), Projeto PROSAB, Belo Horizonte [s.n.]. cap. 3, p. 105-170.

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae-based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**. 2013. v.78, p.1-10.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**. 2008. v.26(3), p.126-131.

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

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.8639-8645.

CRUZ, L.S. Variação temporal das comunidades fitoplanctônicas em uma lagoa de polimento de efluente de um reator anaeróbio compartimentado tratando esgoto sanitário. 2005. **Dissertação de Mestrado** – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Univ. Federal do Espírito Santo. 173p.

CRUZ, L.S.; JÚNIOR, C.D.; KELLER, R.P.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. Variações Temporais de Parâmetros Físico-Químicos e Fitoplanctônicos em Lagoas Facultativas Operando em Regime de Batelada. In: VI Seminário Estadual Sobre Saneamento e Meio Ambiente, Vitória. **Anais ...**, 2005. v.1.

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**. 2011, v.88, p. 3541-3547.

DEVI, M.P.; MOHAN, S.V. CO₂ supplementation to domestic wastewater enhances microalgae lipid accumulation under mixotrophic microenvironment: Effect of sparging period and interval. **Bioresource Technology**. 2012. v.112, p.116–123.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2a ed. Inteligência, Rio de Janeiro, Brasil, 1998. 602p.

FENG, Y; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.101-105.

GE, Y.; LIU, J.; TIAN, G. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.130-134.

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

HOLM-NIELSEN, J.B.; AL SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**. 2009. v.100, p.5478–5484.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**. 2010. v.87, p.38-46.

HUNTLEY, M. E.; REDALJE, D.G. CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. **Mitigation Adapt Strat Global Change**. 2007. v.12, p.573–608.

JIANG, L.; LUO, S.; FAN, X.; YANG, Z., GUO, R. Biomass and lipid production of marine microalgae using municipal wastewater and high concentration of CO₂. **Applied Energy**. 2011. v.88, p.3336-3341.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. Review. **Trends in Biotechnology**. 2010. v.28, p.371-380.

LAM, M.K.; LEE, K.T.; MOHAMED, A.R. Current Status and challenges on microalgae-based carbon capture. **International Journal of Greenhouse Gas Control**. 2012, v.10, p.456–469.

LOPES, E.J.; SCOPARO, C.H.G.; QUEIROZ, F.T.T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**. 2010. v.51, p.894-900.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2006. 588p.

MERCK, **Catálogo Merck Millipore**. Darmstadt, Alemanha: Merck KGaA, 2010.

OLIVEIRA, L.F.; GONÇALVES, R.F. Principais tecnologias empregadas no polimento do efluente de lagoas de estabilização. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro. ABES. 1999. **Anais eletrônicos**.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J.; SHILTON, A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. 2010. **Bioresource Technology**. 2011. v.105, n.3, p.35-42.

PREISIG, H.R.; ANDERSEN, R.A. Historical review of algal culturing techniques. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal Culturing Techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.1, p.1-12.

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

RAZZAK, S.A.; HOSSAIN, M.M.; LUCKY, R.A.; BASSI, A.S.; LASA, H. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2013. v.27, p.622-653.

SANTOS, J.N. Potencial de fixação de CO₂ por microalgas como uma possível contribuição ao “desenvolvimento limpo”. **Dissertação**. Salvador: UFBA, 2012. 71p.

SAWAYAMA, S.; INOUE, S.; DOTE, Y.; YOKOYAMA, S.Y. CO₂ fixation and oil production through microalga. **Energy Conversion and Management**. 1995. v.36, p.729–31.

SCHENK, P.M.; STEPHENS, E.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research**. 2008. v.1, p.20-43.

SIRQUEIRA, D.B.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. **Cianobactérias de águas doce e saúde pública: uma revisão**. Universitas Ciência da Saúde. 2005. v.3, n.1, p.109-127.

SMITH, V.H.; SCHINDLER, D.W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology and Evolution**. 2009. v.24, n.4, p.201-207.

SOUZA, W.G. Associação em série de um reator anaeróbio compartimentado, uma lagoa de polimento e um sistema de pós-tratamento físico-químico para tratamento terciário de esgoto sanitário. **Dissertação**. Vitória: UFES, 2005. 217p.

TOMAZ, P. **Poluição difusa**. São Paulo: Editora Navegar. 2006. 446p.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG. 2005. v.1, 452p.

WANG, B.; LAN, C.Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochloris oleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluent. **Bioresource Technology**, 2011. v.102, p.5639–5644.

**CULTIVO DE MICROALGAS EM EFLUENTE DE UASB EM UM
FOTOBIOREATOR TUBULAR PLÁSTICO SEMI-FECHADO VISANDO À
PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGÁCEA**

RESUMO

Visando à produção de biomassa de microalgas em um fotobiorreator tubular semi-fechado (FBR-TPSF) em efluente de UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), sob condições naturais de temperatura e luminosidade, foram testados o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 1 dia (1d) e de 2 dias (2d) sem recirculação e TDH=2d com duas vazões de recirculação: 4 vezes a vazão de entrada (2dx4Q) e 8 vezes a vazão de entrada (2dx8Q). Os resultados apresentaram produtividade de 0,17, 0,14, 0,09 e 0,05 kg/m³.d de SV para os tratamentos de 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, respectivamente. A remoção da biomassa do cultivo no FRB-TPSF resultou na redução de mais de 90% de fósforo do efluente de UASB para todos os tratamentos. E a biomassa seca resultante dos tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, apresentaram 25,1%, 23,3%, 11,1% e 7,7% de proteínas totais, 13,5%, 11,0%, 10,2% e 10,5% de lipídios totais, 9,7%, 6,8%, 13,4% e 16,5% de carboidratos totais, 52,9%, 46,6%, 51,4% e 43,3% de sólidos voláteis, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de esgoto, biomassa, microalgas, efluente, fotobiorreatores.

**CULTIVATION OF MICROALGAE IN UASB WASTEWATER IN A TUBULAR
PLASTIC SEMI-CLOSED PHOTOBIOREACTOR IN ORDER FOR THE
PRODUCTION OF MICROALGAL BIOMASS**

ABSTRACT

Aiming at the production of microalgal biomass in a Semi-closed Tubular Photobioreactor (FBR-TPSF) utilizing UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) effluent, under light and temperature natural, it were tested hydraulic detention time (TDH) of 1 day (1d) and two days (2d) without recirculation and TDH=2d with two recirculation: 4 times the input flow (2dx4Q) and 8 times the input flow (2dx8Q). The results showed productivity of 0,17, 0,14, 0,09 and 0,05 Kg/m³.d SV for treatments 1d, 2d, and 2dx4Q 2dx8Q, respectively. After the removal of the biomass cultivation in TPSF-FRB recorded reduction of more than 90% phosphorous in the effluent from UASB for all treatments. And dry biomass resulting from treatments 1d, 2d, 2dx4Q and 2dx8Q showed 25,1%, 23,3%, 11,1% and 7,7% total proteins, 13,5%, 11,0%, 10,2% and 10,5% of total lipids, 9,7%, 6,8%, 13,4% and 16,5% total carbohydrates, 52,9%, 46,6%, 51,4% and 43,3% volatile solids, respectively.

KEYWORDS: Wastewater treatment, biomass, microalgae, effluent, photobioreactors.

1. INTRODUÇÃO

A produção de esgoto aumenta paralelamente ao consumo de água, que é em média de 200 L/hab.d (Nuvolari, 2003). Mas nas grandes cidades de alguns países essa taxa de consumo chega a ser quatro vezes maior (Araujo, 2003). Os esgotos sanitários, geralmente apresentam em sua composição mais de 99% de água (Jordão e Pessôa, 2005). A recuperação desta água implica na utilização de sistemas sustentáveis e que permitam a reutilização de seus componentes de forma simples, eficiente e viável economicamente.

Em relação aos sistemas biológicos, os Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors*), apresentam um grande avanço na aplicação da tecnologia anaeróbia para o tratamento direto de águas residuárias (Lettinga *et al.*, 1980; Chermicharo *et al.*, 1999; Andrade Neto e Campos, 1999). E como exemplo de pós-tratamento para o efluente do UASB, podemos citar as lagoas de polimento, que figuram como uma tecnologia favorável e de baixo índice de mecanização (Cavalcanti *et al.*, 2001). No entanto, a grande quantidade de microalgas presentes nestas lagoas (König, 1998; Cruz *et al.*, 2005), constituem significativa fonte de nitrogênio e fósforo sob formas orgânicas no efluente deste tipo de processo (Tsalkatidou *et al.*, 2009; Torrens, 2009; Tomaz, 2006). Sua diversidade e biomassa são muito influenciadas pela carga orgânica da lagoa e variam com as estações do ano, clima, latitude e qualidade do esgoto (König, 1998) e devem ser removidas (Oliveira e Gonçalves, 1996; Rocha *et al.*, 1999) tendo em vista que o seu lançamento em córregos, rios e lagoas estimula a eutrofização nestes corpos hídricos (Chorus e Bartram, 1999; Sirqueira e Oliveira-Filho, 2005; Smith e Schindler, 2009).

Por outro lado, o interesse de produção de biocombustíveis a partir de microalgas (Carlsson *et al.*, 2007; Chisti, 2007; Huntley e Redalje, 2007; Singh e Gu, 2010) vem ganhando maior ênfase com a escalada dos preços de petróleo e as preocupações ambientais com o aquecimento global (Nagle e Lemke, 1990; Sawayama *et al.*, 1995; Gavrilescu e Chisti, 2005). Porém os custos de produção ainda são desfavoráveis (Zeng *et al.*, 2011). Assim surge o interesse na produção de biomassa microalgácea produzida em Estações de Tratamento de Esgoto, tendo como foco a sua valorização energética (Harun *et al.*, 2010) através da produção de biogás (Holm-Nielsen *et al.*, 2009, Collet *et al.*, 2011), de biodiesel (Knothe *et al.*, 1997; Kapdan e Kargl, 2006; Huang *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2011), de etanol (Chisti, 2008; Chen *et al.*, 2013), hidrogênio (H₂) via biofotólise direta ou indireta (Benemann, 2000) ou de outros combustíveis via conversão termoquímica (Schenk *et al.*, 2008; Demirbas, 2011; Mutanda *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2011; Bahadar e Khan, 2013; Barreiro *et al.*, 2013). A possibilidade de utilizar nutrientes presentes em efluentes de tratamento de esgoto doméstico (Aslan, 2006; Zhou *et al.*, 2012; Peccia *et al.*, 2013) pode reduzir os custos (Rawat *et al.*, 2011, Cho *et al.*, 2011) e ainda melhorar a qualidade do efluente pela remoção de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo (Fortier e Sturm, 2012).

O cultivo fotoautotrófico de microalgas pode ser realizado em larga escala através de fotobiorreatores aberto (p.e. modelo *raceway*) ou em fotobiorreatores fechados (Razzak *et al.*, 2013). Cerca de 98% da produção de biomassa algácea comercial ocorre em tanques abertos (Benemann, 2008). Porém os fotobiorreatores fechados são mais viáveis para algumas microalgas que são facilmente contaminadas por microrganismos. Eles apresentam maior eficiência, maior produtividade de biomassa, tempos de colheitas menores, alta taxa superfície/volume e podem ser

utilizados para cultivar um maior número de microalgas do que em sistemas abertos (Chisti, 2007). Entretanto no cultivo em tanques abertos, os custos são menores que os fotobiorreatores fechados (Huang, 2010; Harun *et al.*, 2010).

A eficiência do cultivo é altamente dependente da otimização do fluxo e das trocas gasosas, e a geometria do fotobiorreator pode também maximizar as áreas de iluminação. A produtividade volumétrica reduz com o aumento do diâmetro, enquanto a produtividade por área aumenta com o volume. A estimativa de máxima produtividade por área e volumétrica, para cultivo de *Phaeodactylum tricornutum*, foi de 35 g/m².d e 1,5 g/L.d, respectivamente, com a utilização de tubos com 0,06 m de diâmetro em um fotobiorreator tubular (Molina *et al.*, 2001). Ketheesan e Nirmalakandan (2011), obtiveram uma produtividade de biomassa de 0,16±0,03 g/L.d quando cultivou *Scenedesmus* sp., em um reator “*airlift-driven raceway*” com meio base de Bold com luz fluorescente e temperatura ambiente. E Arbib *et al.* (2013) registraram que sob as mesmas condições obtiveram de 2 a 2,5 vezes mais eficiência fotossintética em um reator tubular que em lagoa de alta taxa, com cultivo de *Scenedesmus obliquus* em efluente de ETE.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar as condições operacionais de um Fotobiorreator Tubular Semi-Fechado (FBR-TPSF) para incrementar a produção de biomassa microalgácea em efluente de UASB, sob condições naturais de temperatura e luminosidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Descrição geral do experimento

Para a realização deste experimento foi utilizado o efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada no Parque Experimental do Núcleo Água – Núcleo de Bioengenharia Aplicada ao Saneamento da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, localizada no Campus Universitário de Goiabeiras – Vitória. Este sistema de tratamento de esgoto é constituído de um Reator Anaeróbio do tipo UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket* – Reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente) e recebeu esgoto numa vazão de até 0,5 L/s do bairro Jardim da Penha, do município de Vitória, Espírito Santo.

O efluente foi caracterizado quanto aos parâmetros físico-químicos: pH, turbidez, sólidos voláteis, fósforo total e nitrogênio-NTK, segundo métodos propostos pelo 21ª Edição *Standard Methods* (Apêndice 50). Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Saneamento da Engenharia Ambiental (LABSAN) no Centro Tecnológico do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Vitória-ES.

2.2 Descrição do Fotobiorreator Tubular Plástico Semi-Fechado (FBR-TPSF)

O Fotobiorreator Tubular Plástico Semi-Fechado (FBR-TPSF), recebeu o efluente do UASB em um tanque de 2000 L para estocagem (Figura III.1-c). A unidade de FBR-TPSF foi composta por 6 (seis) linhas tubulares de 300 (trezentos) mm de diâmetro em plásticos de PEBD (polietileno de baixa densidade), 100 micras de espessura, transparente com 8 (oito) metros de comprimento. O volume total do FBR-TPSF foi

de aproximadamente 3.400 (três mil quatrocentos) litros. Em cada extremidade foi instalado um compartimento de 400 (quatrocentos) litros (Figura III.1-d/f) de capacidade, para recepção e redistribuição do efluente, os quais permaneceram cobertos, sem entrada de luz. Foi implantado um sistema de recirculação, construído em tubos de PVC de 75 mm e uma bomba hidráulica de 1/4CV (Figura III.1-g) para a realização dos testes operacionais com recirculação constante do cultivo no FBR-TPSF.

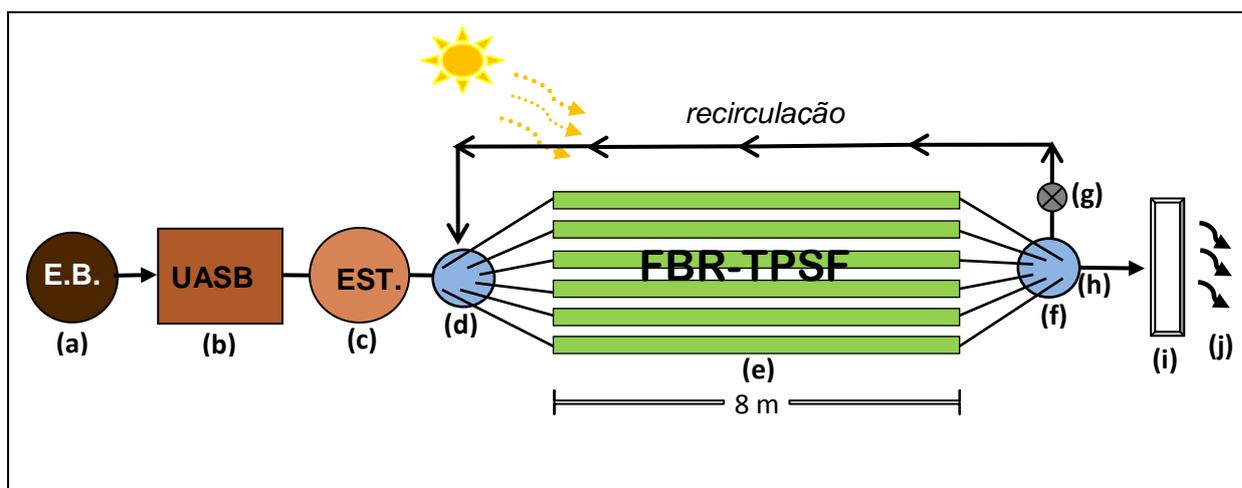


Figura III.1 Esquema com vista superior do sistema - tratamento anaeróbico UASB+FBR-TPSF: **(a)** Tanque de Esgoto Bruto; **(b)** Reator Tipo UASB; **(c)** Tanque de 2m^3 para estoque e equalização de efluente do UASB; **(d)** Tanque de entrada e redistribuição do efluente para o FBR-TPSF; **(e)** “Área de luz” constituída pelas linhas tubulares de plástico transparente; **(f)** Tanque de recepção e recirculação do cultivo do FBR-TPSF; **(g)** Bomba hidráulica para recirculação do cultivo; **(h)** Registro hidráulico de saída do cultivo do FBR-TPSF; **(i)** Sistema de tratamento físico-químico (TFQ) para remoção da biomassa; **(j)** Ponto de lançamento do efluente final.

O FBR-TPSF foi montado sobre um tablado de madeira recoberto com forro de PVC branco, a cerca de 6 cm do chão (Figura III.2-b). Esta estrutura permitiu a circulação de ar do FBR-TPSF, para evitar o aumento de temperatura na parte inferior das linhas de tubo plástico do FBR-TPSF.



Figura III.2 Detalhes da estrutura do FBR-TPSF na ETE/UFES: **(a)** Montagem da estrutura básica do FBR-TPSF; **(b)** Estrutura do tablado e teste com uma linha tubular plástica; **(c)** Tanque de entrada do efluente, chegada da recirculação do cultivo e distribuição nivelada por “tulipas” para as seis linhas do FBR-TPSF; **(d)** Tanque de recepção do cultivo, saída para bomba de recirculação; **(e)** Acoplamento das linhas tubulares plásticas à estrutura básica do FBR-TPSF; **(f)** Perfil completo do FBR-TPSF.

2.3 Condições ambientais no cultivo de microalgas em FBR-TPSF

O cultivo das microalgas presentes no efluente foi realizado sob condições naturais de luminosidade e temperatura durante o período de maio a julho de 2013. A luminosidade medida junto ao FBR-TPSF foi correlata aos dados de radiação da Estação Meteorológica mais próxima ao experimento, fornecido pelo INMET (Apêndice III.40).

2.4 Condições operacionais testadas no FBR-TPSF

Os cultivos de microalgas no FBR-TPSF foram realizados sob dois Tempos de Detenção Hidráulica (TDH) e duas vazões de recirculação, o que resultou nos tratamentos descritos na tabela III.1.

Tabela III.1 Condições operacionais testadas no FBR-TPSF.

| Trat | Tempo de Detenção Hidráulico (TDH) | Recirculação (rC) |
|-------|------------------------------------|-------------------|
| 1d | $\theta = 1$ dia | - |
| 2d | $\theta = 2$ dias | - |
| 2dx4Q | $\theta = 2$ dias | 4x Q* |
| 2dx8Q | $\theta = 2$ dias | 8x Q* |

* Q = a vazão de entrada de efluente de UASB no sistema.

O cultivo no FBR-TPSF foi realizado, sem sementeira externa de microalgas, sob condições naturais de luminosidade e temperatura. Para acompanhamento do crescimento das microalgas, foram tomadas 3 (três) amostras simples com volume de 500 mL a cada 24 (vinte e quatro horas), no horário das 13:00h, durante 10 (dez) dias de cultivo em sistema contínuo. Os pontos de coleta, de acordo com a figura III.1, foram: **(f)** tanque de chegada do cultivo; **(h)** saída do tanque e **(i)** antes do TFQ.

Os parâmetros avaliados diariamente foram pH, turbidez e clorofila-a, realizados em triplicata. E a cada 3 (três) dias foram realizadas análises de sólidos voláteis.

No momento da coleta das amostras, também foram medidos diariamente, *in situ*: luminosidade (lx) em seis pontos do FBR-TPSF, sendo quatro em cada extremidade externa e dois no centro das linhas externas; temperatura (°C), medida nos seis pontos de chegada do efluente no tanque (Figura III.1-f), correspondendo assim a temperatura de cada linha; e pH do efluente, que foi medido na chegada do efluente do UASB no tanque (Figura III.2-d).

2.5 Remoção da biomassa e caracterização físico-químico do efluente final

Após 9 (nove) dias de cultivo de cada tratamento, foram coletados 300 (trezentos) litros de cultivo do FBR-TPSF em um tanque e adicionados como agente coagulante 3 (três) litros de uma solução aquosa de 25 g/L de $Al_2(SO_4)_3$ para atingir a concentração final de 250 mg/L. Após a agitação, a mistura foi deixada em repouso por 1 (uma) hora para decantação da biomassa e posterior remoção da fração sobrenadante. A fração contendo a biomassa, a partir daqui denominada de lodo algáceo, foi centrifugada a 2000 rpm por 5 (cinco) minutos, depois seca em estufa a 65°C e triturada com pistilo, peneirada e acondicionada em fracos de vidro para posterior utilização nas análises dos teores de proteínas totais, lipídios totais, carboidratos totais e sólidos voláteis (Figura III.3). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

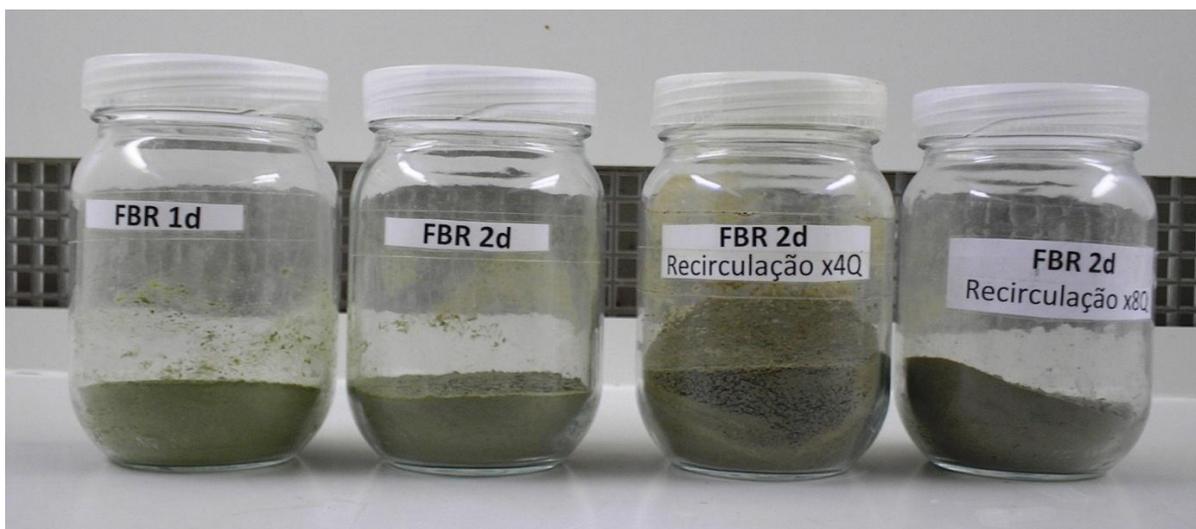


Figura III.3 Lodo algáceo seco e triturado, destinado à análise de proteínas totais, lipídios totais, carboidratos totais e sólidos voláteis.

Após a adição do coagulante e da decantação do lodo algáceo, uma amostra de 1 (um) litro do sobrenadante foi coletada em erlenmeyer autoclavado e em seguida, levada para análises físico-químicas em laboratório. Foram medidos: pH, turbidez, sólidos voláteis, nitrogênio-NTK, fósforo (APHA, 2005) e clorofila-a *in vivo* por fluorimetria utilizando um aparelho portátil da marca Aquafluortm.

2.6 Perfil bioquímico da biomassa do FBR-TPSF

2.6.1 Determinação de proteínas totais no lodo algáceo

A percentagem de proteínas totais no lodo algáceo seco foi determinada pelo método de aplicação do fator de conversão N-Prot. Para isto foram utilizados 10 mg de MS de lodo algáceo para realização da análise de nitrogênio pelo método Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), segundo 21^a Edição *Standard Methods* (Apêndice 50). O valor de N encontrado foi multiplicado por 4,71, fator médio de conversão da

concentração de nitrogênio em biomassa algácea em proteínas totais sugerido por Lourenço (2006).

2.6.2 Determinação de carboidratos totais do lodo algáceo

A determinação da percentagem de carboidratos totais no lodo algáceo seco foi realizado pelo Método do Fenol-Ácido Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Foram pesados 10 mg de MS do lodo algáceo e transferidos para tubos falcon de 15 mL. Adicionou-se 10 mL da solução de ácido tricloroacético a 5% e foram levados a banho-maria por uma hora a 40°C. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 20 minutos e pipetou-se uma alíquota de 1mL do sobrenadante, adicionou-se a cada tubo de ensaio 1mL da solução de fenol 5% e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Paralelamente foi construída uma curva de calibração, em que a glicose foi utilizada como o carboidrato de referência.

2.6.3. Determinação de lipídios totais do lodo algáceo

Para a determinação de lipídios totais foi escolhido o método Bligh e Dyer (1959), que é um dos mais utilizados na extração de lipídios em biomassa algácea (Craggs e Park, 2011; Feng *et al.*, 2011; Mutanda *et al.*, 2011; Rawat *et al.*, 2011). Foram pesados 5 (cinco) g de MS do lodo algáceo, em erlenmeyers de 125 mL previamente secos. Adicionou-se 25 mL de metanol, 12,5 mL de clorofórmio e 5 mL de água. O erlenmeyer contendo a amostra foi posto para sonicar em banho ultrassônico por um período de 40 minutos. Após este tempo, foram adicionados mais 12,5 mL de

clorofórmio e 12,5mL de solução de sulfato de sódio 1,5% e realizou-se a sonicação novamente por mais 20 minutos. Em seguida, a amostra foi filtrada em papel de fibra de vidro GF1 e o filtrado coletado em tubos falcon de 50 mL. A parte superior foi removida com uma pipeta e a parte inferior do filtrado foi separada em um becker de vidro previamente seco e pesado, e levado para evaporação do solvente a 80°C por cerca de 15-20 minutos, em seguida seca em estufa a 105 °C por 1 hora e depois pesada. O percentual de lipídios totais foi calculado considerando o peso da amostra e o peso do extraído.

2.6.4 Determinação de Sólidos Voláteis do lodo algáceo

A quantificação de sólidos voláteis foi realizada pelo método gravimétrico segundo a 21ª edição do *Standard Methods* (APHA, 2005) (Apêndice 50).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Condições ambientais de cultivo

A temperatura é um dos fatores que mais afeta a taxa metabólica dos organismos. Segundo Lourenço (2006) para o cultivo de microalgas de espécies tropicais, a temperatura deve permanecer em torno de 20 a 30°C. Durante o período que realizou-se os experimentos, observou-se uma relação direta entre a temperatura ambiente e a temperatura da água no fotobiorreator, sendo constatado que esta ultrapassou pouco frequentemente àquela (Figura III.4).

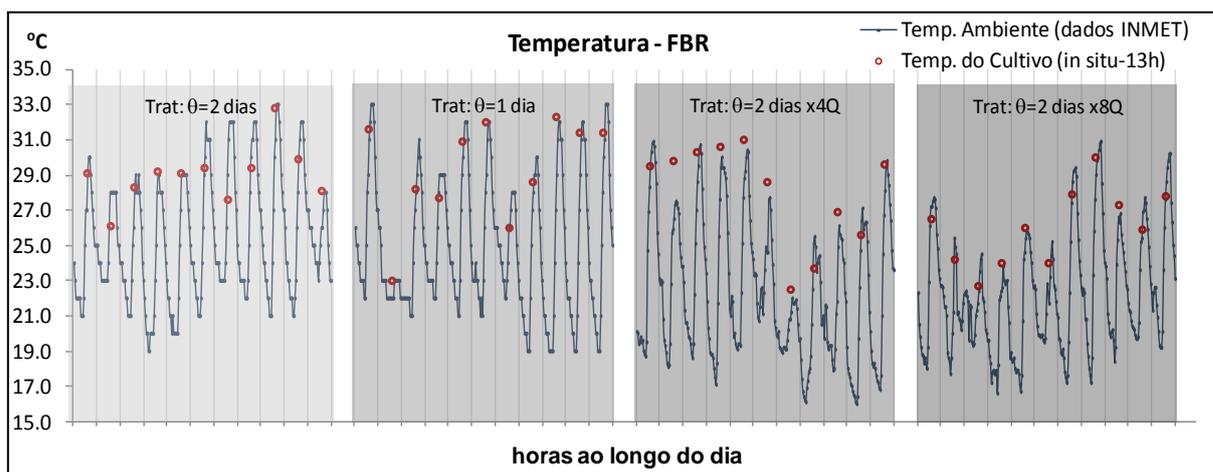


Figura III.4 Dados de radiação fornecido pelo INMET (Est.A612) e de luminosidade medidos *in situ* no momento da coleta das amostras para análises.

Para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, os valores das medianas de temperatura do cultivo foram 30,9; 29,2; 29,2 e 26,2 °C, respectivamente. O tratamento de 1d apresentou a maior mediana, mas observando-se a figura III.5a, também apresentou maior variação na temperatura do cultivo durante o experimento. As medianas da temperatura ambiente, foram 16,7; 16,7; 21,0; 21,2 °C e as máximas não *out line*, foram 33,0; 33,0; 30,9 e 30,4 °C, para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, respectivamente.

A luminosidade é outro fator de grande influência na produção de biomassa para organismos fotossintéticos. De acordo com os resultados, observou-se que a maior variação e a maior mediana, 72.375 lx, de luminosidade medida *in situ*, foi observada no período do experimento com aplicação do tratamento 2dx8Q (Figura III.5c-d). Os valores máximos, não *out line*, de luminosidade para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2d x8Q, foram 110.500, 108.600, 107.100 e 119.800 lx, respectivamente. Os valores máximos, não *out line*, de radiação para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, foram 2.225,2 kJ/m², 2.466,8 kJ/m², 2.055,0 kJ/m² e 2.059,0 kJ/m², respectivamente.

(Apêndice III.40). Foi detectada uma perda média na transmissão de luminosidade de 12,6% com o plástico novo e de 27,3% do plástico após utilização no FBR-TPSF.

A fotossíntese aumenta conforme a intensidade de luz solar, até o ponto de saturação luminosa, em que se obtém a taxa máxima de crescimento algal. Aumentar a intensidade de luz além deste ponto leva à foto-oxidação (foto-inibição), danificando os receptores de energia luminosa nas algas (Richmond, 2004). Estudos realizados por Craggs e Park (2011) na Nova Zelândia, apresentaram uma pequena relação entre a variação climática regional e a produtividade de biomassa algácea/bacteriana.

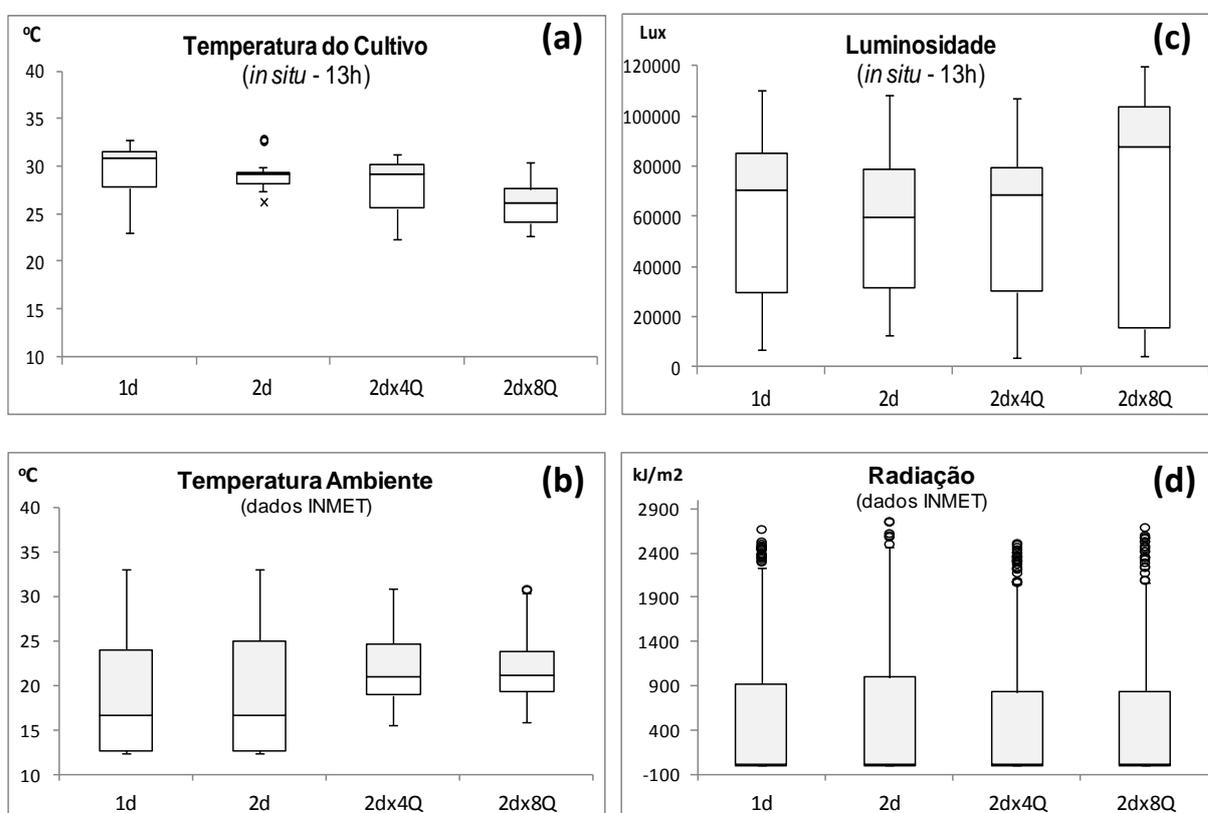


Figura III.5 *Boxplot* dos parâmetros ambientais medidos *in situ* às 13h e dos dados cedidos pelo INMET da Estação Meteorológica A-612 do período de realização do experimento com o FRB-TPSF.

3.2 Caracterização do efluente final

Ao final de cada teste operacional foram removidas as biomassas de 300 litros de cultivo, e observou-se que o pH do efluente do TFQ apresentou valores de pH iguais a 6,2, 6,1, 6,4 e 6,3 e de turbidez igual a 7,6, 9,6, 8,4 e 9,6 para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, respectivamente. A colheita da biomassa pela adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio removeu do cultivo 91,8, 93,3, 89,3 e 87,1% da clorofila-a e 71,2, 62,4, 61,1 e 51,9% de sólidos voláteis, para os testes de 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, respectivamente (Figura III 6).

A remoção de fósforo do efluente de UASB ultrapassou 90% para todos os teste de cultivo no FBR-TPSF (Figura III.16), e apresentou teores de fósforo total no efluente do TFQ igual ou inferiores a 0,40 mg/L, concentração inferior ao limite mais restritivo de descarga do European Directive (1998), que é de 1 mg/L de fósforo. Este resultados estão em concordância com os resultados encontrados por Arbib *et al.* (2013), em cultivo de *Scenedesmus obliquus* em efluente de Sistema de Tratamento de Esgoto em um reator tubular. Os resultados de remoção para o parâmetro nitrogênio-NTK dos tratamentos de 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, foram de 10,2, 16,8, 5,2 e 6,4%, respectivamente. E resultou em concentrações no efluente do TFQ superiores a 23 mg/L. Li *et al.* (2011) cultivaram em batelada a microalga *Chlorella* sp. em um reator circular em escala de bancada contendo esgoto filtrado e registraram valores de remoção de 93,9% de amônia, 89,1% de nitrogênio total e 80,1% de fósforo total.

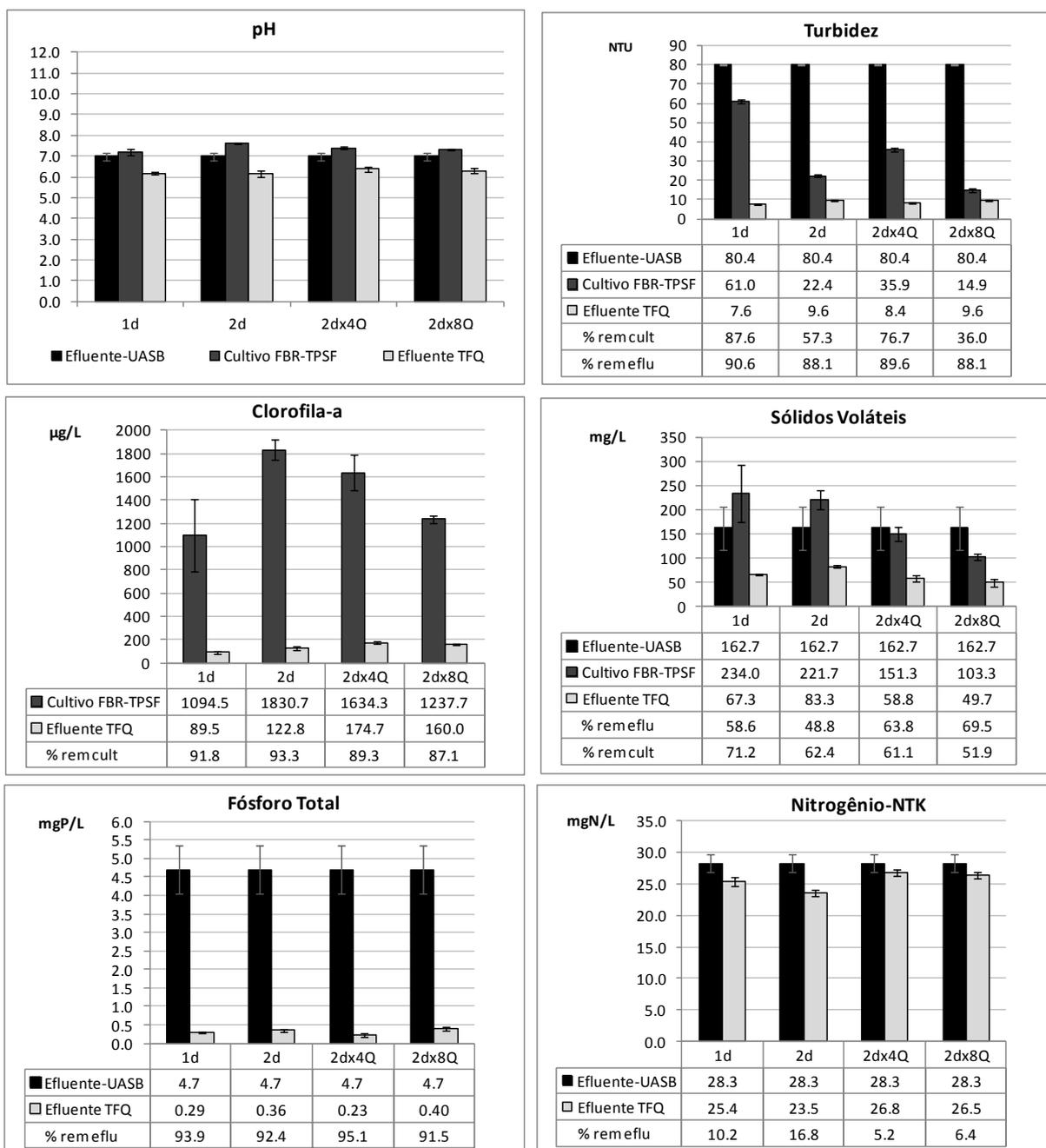


Figura III.6 Caracterização físico-química do efluente-UASB e efluente-TFQ (barra de erros=desvio padrão, n=3).

Com base nos teores de sólidos voláteis, foram calculados os incrementos de biomassa, a produtividade e a produção durante o cultivo no FBR-TPSF, e os resultados foram descritos na Tabela III.2. Foram registrados os aumentos de 71,3 mg/L e de 59,0 mg/L de sólidos voláteis no efluente após o cultivo no FBR-TPSF, e

remoção de 166,7 mg/L e de 138,4 mg/L de biomassa, respectivamente para os testes sem recirculação de TDH igual a 1d e 2d. A máxima produtividade foi 0,17 kg/m³.d de sólidos voláteis para o cultivo realizado com 1 (um) dia de detenção hidráulica do efluente de UASB no FBR-TPSF, o que resulta na produção de 0,57 KgSV/d.

Tabela III.2 Balanço de massa para o FBR-TPSF sob diferentes condições operacionais.

| Trat | SV efluente UASB (a) | SV cultivo FBR-TPSF (b) | SV efluente do TFQ (c) | Δ SV produzido no FBR-TPSF (b-a) | Δ SV removido do FBR-TPSF (b-c) | Produtividade (Kg/m ³ .d) | Volume de efluente /dia (m ³) | Produção de lodo algáceo seco (Kg SV/d) |
|--------------|----------------------|-------------------------|------------------------|---|--|--------------------------------------|---|---|
| | (mg/L) | | | | | | | |
| 1d | 162,7 | 234,0 | 67,3 | 71,3 | 166,7 | 0,17 | 3,4 | 0,56678 |
| 2d | 162,7 | 221,7 | 83,3 | 59,0 | 138,4 | 0,14 | 1,7 | 0,23528 |
| 2dx4Q | 162,7 | 151,3 | 58,8 | -11,4 | 92,5 | 0,09 | 1,7 | 0,15725 |
| 2dx8Q | 162,7 | 103,3 | 49,7 | -59,4 | 53,6 | 0,05 | 1,7 | 0,09112 |

3.3 Influência do TDH e da recirculação no cultivo de microalgas em FBR-TPSF

Considerando a clorofila-a como o parâmetro indicador do crescimento das microalgas, observou-se as maiores concentrações de microalgas no teste com TDH de 2d, entre o 2º e 5º dia de cultivo. O valor máximo alcançado foi de 3.579,9 µg/L (Apêndice III.41), e na sequência apresentou decaimento na produção (Figura III.7). Estes resultados sugerem que a formação de biofilme observada nas paredes das linhas plásticas do fotobiorreator, prejudicou o aproveitamento da energia solar dentro das linhas tubulares, além de funcionar como filtro biológico. A concentração de algas em lagoas depende da quantidade de nutrientes, temperatura e luminosidade, mas usualmente está na faixa de 500-2000 µg de clorofila-a/L, segundo Mara (1987) citado por Abdel-Raouf *et al.* (2012).

O crescimento fotoautotrófico torna-se lento por causa da limitação da luz em altas densidades de células para produção em larga escala. À medida que aumenta a concentração algal, cresce também o efeito de sombra criado pela biomassa. Uma concentração algal de 300 g SST/m³ absorve quase toda a luz disponível em 15 cm de profundidade (PARK *et al.*, 2011).

Os testes com recirculação 2dx4Q e 2dx8Q, apresentaram resultados inferiores de produção média de biomassa microalgácea, 152,5 mg/L e 124,5 mg/L de SV, respectivamente, quando comparados com os testes sem recirculação, 1d e 2d, que foram de 228,0 mg/L e 221,5 mg/L de SV, respectivamente (Apêndice III.42).

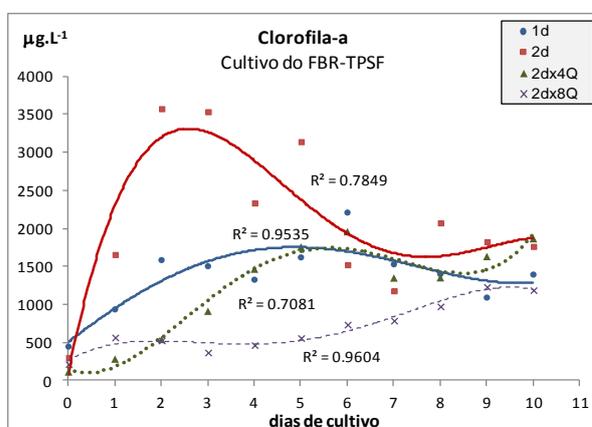


Figura III.7 Curva de crescimento das microalgas no FBR-TPSF, utilizando a clorofila-a como parâmetro de referência.

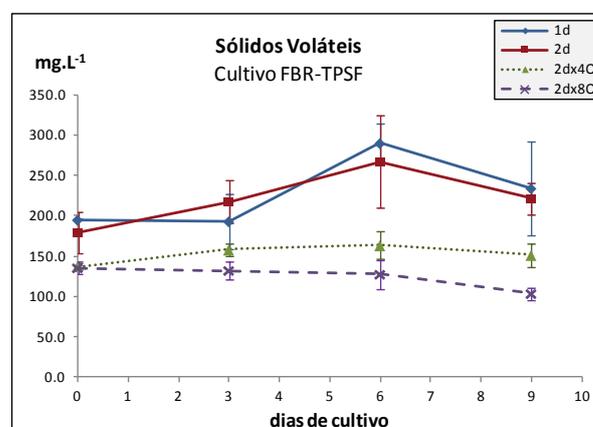


Figura III.8 Variação dos sólidos voláteis durante o cultivo de microalgas no FBR-TPSF.

A recirculação levou o cultivo a permanecer com maior frequência nos tanques de recepção e redistribuição (Figura III.1–d/f). Neste tanques a ausência de luz, não favorece a atividade fotossintética, portanto, é possível que unindo-se à presença de predadores, tenha havido perdas de biomassa algácea nestes tratamentos. Segundo Chisti (2007) cerca de 25% da biomassa produzida durante o dia é perdida durante a noite (período escuro) pela alta taxa de respiração. Doucha e L'ivanský (2006)

registraram perdas noturnas de biomassa devido à respiração em cerca de 6,6 a 14% no cultivo de *Chlorella* sp. em fotobiorreatores. E ainda, segundo Schenk *et al.* (2008), apenas cerca de 2 a 6 espécies de microalgas apresentam naturalmente dominância em cultivos de sistemas de lagoas por apresentarem rápido crescimento, resistência a predadores, tolerância a níveis de oxigênio dissolvido etc.

Embora os valores médios de sólidos voláteis para os tratamentos 1d e 2d permaneçam próximos (Tabela III.3), observou-se teores menores de clorofila-a, deduz-se que no tratamento 1d ocorreu maior presença de biomassa não microalgácea, tais como bactérias, protozoários ou mesmo compostos orgânicos provenientes do efluente.

Molina *et al.* (2001) observaram que a aplicação de velocidade inferiores a 0,35 m/s resultou em queda na produtividade de biomassa em um fotobiorreator tubular. Em estudos realizados por Feng *et al.* (2011) com *C. vulgaris*, cultivada em água residuária sintética com manejo semi-contínuo e taxa de substituição diária em um reator de coluna aerado, atingiu-se a produtividade de biomassa de 147 mg/L.d.

Durante os experimentos a turbidez variou entre 13,7 a 105 NTU. Sendo observado que entre os testes operacionais, aquele com TDH=2 dias apresentou a menor média, 27,0 NTU, durante os dez dias de cultivo. Entende-se que a produção de biomassa com dois dias de detenção do efluente como meio de cultivo, resultou em uma maior produção de microalgas, porém, resultou num efluente com menor turbidez (Figura III.9). O crescimento de microalgas nestes cultivos mistos em efluente não estéril foi acompanhada da produção de biomassa de outros microorganismos, tais como bactérias, que conciliadas promoveram a remoção de sólidos presentes no efluente de UASB, reduzindo a turbidez.

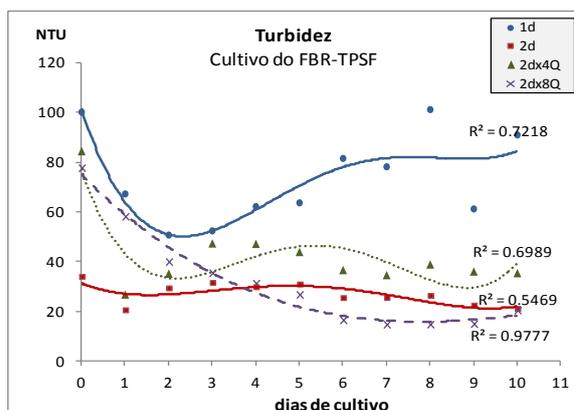


Figura III.9 Variação da turbidez durante o cultivo das microalgas no FBR-TPSF.

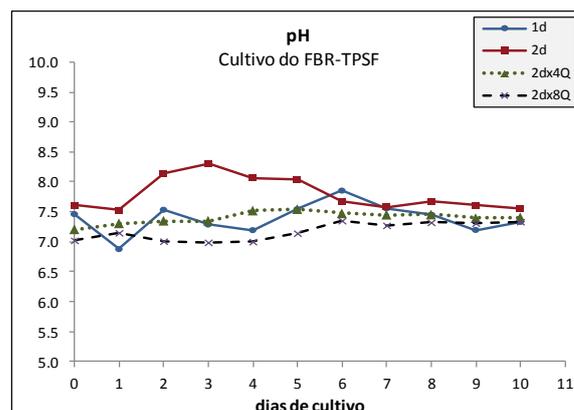


Figura III.10 Variação do pH durante o cultivo das microalgas no FBR-TPSF.

Os valores de pH no cultivo em FBR-TPSF variaram dentro da faixa de 6,73 a 8,35, sendo os maiores valores de pH atingidos no cultivo com dois dias de detenção sem recirculação (Figura III.12). Este comportamento do pH ocorre devido ao consumo de CO_2 pelas microalgas durante a atividade fotossintética, e resulta no deslocamento do equilíbrio do íons bicarbonatos presentes no meio aquoso. O valores de pH e clorofila-a apresentaram uma correlação linear de 70,51% (Apêndice III.49). Vale ressaltar que fatores não controlados podem ter interferido na produção de biomassa microalgácea, tais como, temperatura ambiente, temperatura alcançada pelo cultivo, luminosidade, assim como, turbidez, pH e sólidos voláteis do efluente de UASB.

Tabela III.3 Média geral para cada tratamento após dez dias de cultivo no FBR-TPSF (\bar{x} ±desvio padrão, n=11 e para SV, n=4).

| Tratamento | Clorofila-a ($\mu\text{g/L}$) | Turbidez (NTU) | pH | SV (mg/L), |
|------------|------------------------------------|-------------------|---------|--------------------------|
| 1d | 1.370,5±444,7 | 73,4±18,0 | 7,4±0,3 | 228,0±45,4 |
| 2d | 2.088,1±1.008,1 | 27,0±4,5 | 7,8±0,3 | 221,5±35,9 |
| 2dx4Q | 1.205,5±645,6 | 42,2±15,2 | 7,4±0,1 | 152,5±11,2 |
| 2dx8Q | 698,1±327,5 | 31,8±20,3 | 7,2±0,1 | 124,5±14,5 |

3.5 Caracterização bioquímica do lodo algáceo

As microalgas são organismos capazes de converter a energia luminosa e gás carbônico em biomassa com compostos orgânicos diversificados, tais como, proteínas, carboidratos e lipídios em curto período de tempo (Brennan e Owende, 2010), e esta biomassa pode ser empregada como uma fonte renovável de energia (Wang e Lan, 2011) por diferentes vias de conversão. O seu perfil químico indica qual biocombustível pode ser produzido para que haja uma maior eficiência na conversão desta biomassa em energia.

De acordo com resultados expostos na Figura III.11, o cultivo de microalgas no FBR-TPSF sem recirculação apresentou maior percentual de proteínas (Apêndice III.44). O menor teor de proteína, 7,7%, foi registrado para o cultivo na operação do sistema com 2dx8Q, que também apresentou a menor produção média em termos de clorofila-a (698,1 $\mu\text{g/L}$) e de sólidos voláteis (124,5 mg/L) no cultivo em FBR-TPSF.

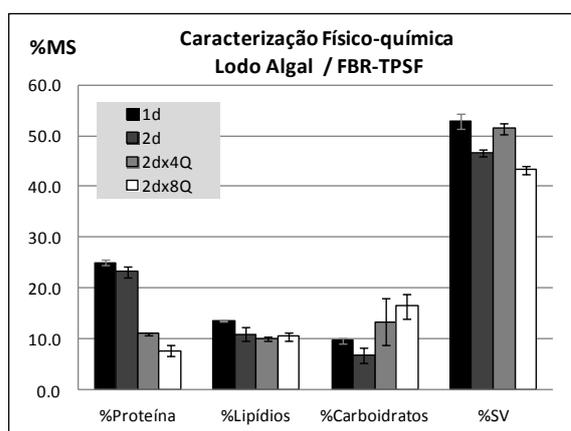


Figura III.11 Caracterização físico-química do lodo algáceo removido do FBR-TPSF. (Vide Apêndice III.48)

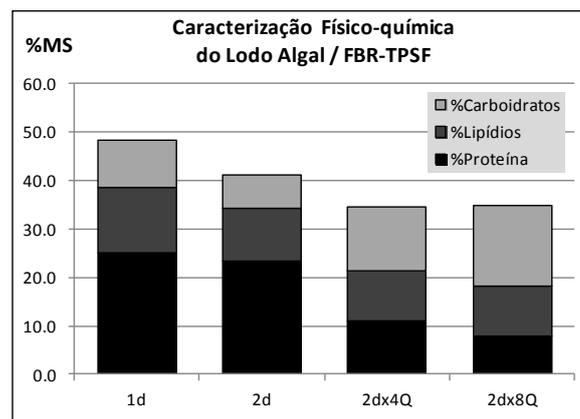


Figura III.12 Caracterização físico-química do lodo algáceo removido do FBR-TPSF por tratamento.

Os teores de lipídios no lodo algáceo do FBR-TPSF foram de 13,5; 11,0; 10,2 e 10,5 %MS para os tratamentos 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, respectivamente. Mulbry *et al.* (2008) encontraram valores de ácidos graxos entre 0,6 a 1,5% do peso seco de

biomassa microalgácea, obtida pelo cultivo em efluente de tratamento anaeróbio de esterco suíno e de laticínio, sem apresentar relação consistente entre taxa de aplicação, tipo de resíduo ou adição de CO₂. Craggs e Park (2011) compararam a biomassa algácea/bacteriana produzida em sistemas de tratamentos de esgoto entre lagoas de alta taxa e lagoas de maturação e encontraram os valores máximos de lipídios totais de 32% e 34% no verão e de 22% e 47% no inverno, respectivamente.

De acordo com outros autores, células de *Chlorella pyrenoidosa* podem acumular teores de até 70% lipídeos na sua biomassa sob condições de limitações nutricionais, principalmente nitrogênio e silicatos (Borowitzka e Borowitzka, 1988; Hu, 2004). E estudo realizado por Sydney *et al.* (2011) registraram a produção de 1,88 g/L de *Botryococcus braunii* com 36,14% de lipídio, associado a remoção de 79,63% de nitrogênio e 100% de fósforo de efluente de esgoto doméstico tratado. Enquanto o acúmulo de carboidratos foi observado em até 70% da biomassa sem redução significativa da produtividade, o acúmulo de lipídios foi acompanhado com uma redução significativa da produção de biomassa (Fogg, 1965; Shifrin e Chrisholm, 1981).

Entretanto estudos específicos e cuidadosos sobre cada espécie devem ser realizados, pois outros fatores como salinidade, pH e oxigênio dissolvido são também fatores importantes que afetam o cultivo de microalgas (Huang *et al.*, 2010). Illman *et al.* (2000) cultivaram *Chlorella vulgaris* em um fotobiorreator tubular bombeado testando dois meios de cultivo. A produtividade de biomassa foi maior no meio de Watanabe, 40 mgMS/L.d do que no meio com baixo teor de nitrogênio que foi de 24 mgMS/L.d, no entanto, neste último houve aumento do conteúdo lipídico e do valor calórico.

Os teores médios de carboidratos para o lodo algáceo produzido nos dois cultivos com recirculação (2dx4Q e 2dx8Q) no FBR-TPSF, foram maiores (13,4 e 16,5%) quando comparados com os cultivos sem recirculação, 9,7 e 6,8% para 1d e 2d, respectivamente (Figura III.11). Embora resultados estatísticos demonstraram que os tratamentos de 1d e 2dx4Q não diferem significativamente (Apêndice III.48).

Os teores de SV para os testes com 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q, foram de 52,9, 46,6, 51,4 e 43,3% MS. Diante do perfil físico-químico da biomassa removida do FBR-TPSF pode-se afirmar que uma alternativa interessante é a sua utilização no incremento para produção de biogás dentro da Estação de Tratamento de Esgoto, através da digestão anaeróbia no UASB gerando CH_4 que poderá ser aproveitado como fonte energética. Menger-Krug *et al.* (2012), assumiram a que digestão anaeróbia do lodo algáceo é capaz de produzir em torno de 569 L biogás/Kg de sólidos suspensos voláteis (SSV), o equivalente a 370L CH_4 /kg de SSV para a digestibilidade de 70%. Usando este mesmo parâmetro como estimativa tem-se a produção de aproximadamente 85 L de CH_4 por m^3 de cultivo do FBR-TPSF com TDH=1d.

Mas, segundo Brennan e Owende (2010), o alto conteúdo proteico das microalgas aumenta a amônia no processo de digestão anaeróbia, o que inibe os microrganismos anaeróbios. Mutanda *et al.* (2011) afirmam que a co-digestão ou pré-tratamento físico-químico são estratégias que podem aumentar significativamente e eficientemente a conversão de matéria orgânica algácea em metano. Por outro lado, Frigon *et al.* (2013) detectou a produção de 410 mL/g SV para biomassa de *Scenedesmus* sp. AMDD jul-2011 por digestão anaeróbia e

confirma que estudos voltados para pré-tratamentos de biomassa microalgácea pode aumentar a produção de metano por digestão anaeróbia.

É sugerido por Ehimen *et al.* (2011) que o resíduo da extração de óleos da biomassa de microalgas, quando utilizada a digestão anaeróbia produz até $0,308\text{m}^3\text{CH}_4/\text{kg}$ de SV com 69,2% CH_4 v/v no biogás, à temperatura de 40°C. E que o glicerol resultante da transesterificação para produzir biodiesel, também pode ser aproveitado para produção de metano. E Harun *et al.* (2010) e Holm-Nielsen *et al.* (2009), afirmam que a biomassa residual da digestão anaeróbia também pode ser processada e aproveitada como fertilizante.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados pode-se concluir que o cultivo no FBR-TPSF incrementou a produção de biomassa no efluente de UASB quando operou sem recirculação. E resultou numa maior produção de clorofila-a com 2 dias de tempo de detenção hidráulica (TDH), porém apresentou maior produção de biomassa quando funcionou com TDH igual a 1 dia, que resultou na produtividade de 0,17 e 0,14 $\text{kg}/\text{m}^3.\text{d}$ para 1d e 2d, respectivamente. O lodo microalgáceo removido no fotobiorreator apresentou teores de sólidos voláteis de 52,9, 46,6, 51,4 e 43,3% MS. para os testes com 1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q. E que, juntamente com o perfil bioquímico, indica possibilidades de sua aplicação na geração de energia. Para tanto são necessários estudos detalhados para elucidar as vias mais apropriadas para geração de energia dentro da própria Estação de Tratamento.

5 AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio institucional, em especial ao LABSAN (Laboratório de Saneamento) onde foram realizados os experimentos e análises. Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de Doutorado e a CESAN (Companhia Espírito Santense de Saneamento) pela colaboração na realização deste Projeto.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMIDAN, A.A.; IBRAHEEM, I.B.M.. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2012. v.19, p.257–275.

ANDRADE NETO, C.O.; CAMPOS, J.R. (1999). Capítulo 1: Introdução. In: CAMPOS, J. R. (coordenador). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1.ed. Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, 1999. p.1-28.

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, AmericanPublic Health Association, Washington, DC., 2005.

ARAUJO, R. **O esgoto sanitário**. In: Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola. Coord. NUVOLARI, A., São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. cap.2, p.15-36.

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

ASLAN, S.; KAPDAN, I.K. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. **Ecological Engineering**. 2006. v.28, p.64-70.

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

BARREIRO, D.L.; PRINS, W.; RONSSE, F.; BRILMAN, W. Hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae for biofuel production: State of the art review and future prospects. **Biomass and Bioenergy**. 2013. v.53, p.113-127.

BENEMANN J.R. Hydrogen production by microalgae. **Journal of Applied Phycology**. 2000. V.12, p.291-300.

BENEMANN J.R. **Opportunities and challenges in algae biofuels production** - A Position Paper. by Dr. John R. Benemann in line with Algae World. 2008.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, 1959, v.37, n.8, p.911-917.

BOROWITZKA, M.A.; BOROWITZKA, L.J. **Microalgal Biotechnology**. Cambridge University Press, Cambridge, 1988.

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

CARLSSON, A.S.; VAN BEILEN, J.B.; MÖLLER, R.; UND CLAYTON, D. **Micro- and Macro-Algae: Utility for industrial applications**. D. Bowles, University of New York. 2007.

CAVALCANTI, P.F.F.; HAANDEL, A. van; KATO, M.T.; SPERLING, M. von; LUDUVICE, M.L.; MONTEGGIA, L.O. (2001). **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por lagoas de polimento**. In: Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Carlos Augusto Lemos Chernicharo (coord.), Projeto PROSAB, Belo Horizonte [s.n.]. cap. 3, p. 105-170.

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae-based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**. 2013. v.78, p.1-10.

CHERNICHARO, C. A. L.; VAN HAANDEL, A.; AISSE, M. M.; CAVALCANTI, P. F. F. Capítulo 7: Reatores Anaeróbios de Manta de Lodo. In: CAMPOS, J. R. (coordenador). **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1. ed. Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, 1999. p.155-198.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**. 2008. v.26(3), p.126-131.

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

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.8639-8645.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.) **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management**. London: E & FN Spon. 1999. p.369-405.

COLLET, P.; HÉLIAS, A.; LARDON, L.; RAS, M.; GOY, R.A.; STEYER, J.P. Life-cycle assessment of microalgae culture coupled to biogas production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.207-214.

CRAGGS, R.J. Advanced integrated wastewater ponds. In: SHILTON, A. (Ed.). **Pond Treatment Technology**. Londres: IWA Publishing, 2005. p.282–310.

CRAGGS, R.J.; PARK, J.B.K. Algal/bacterial lipid production in wastewater treatment ponds. In: **9th IWA Specialist Group Conference on Waste Stabilisation Ponds**. 1-3 August 2011. (ISBN: 978-1-921335-17-4)

CRUZ, L.S.; JÚNIOR, C.D.; KELLER, R.P.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. Variações Temporais de Parâmetros Físico-Químicos e Fitoplanctônicos em Lagoas Facultativas Operando em Regime de Batelada. In: VI Seminário Estadual Sobre Saneamento e Meio Ambiente, Vitória. **Anais ...**, 2005. v.1.

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**. 2011, v.88, p. 3541-3547.

DOUCHA, J.; LÍVANSKY, K. Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in Middle and Southern European climate. **Journal of Applied Phycology**. 2006; v.18(6), p.811-826.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. 1956. v.28, n.3, p.350-356.

EHIMEN, E.A.; CARRINGTON, C. G.; BIRCH, E. J.; EATON-RYE, J. J. Anaerobic digestion of microalgae residues resulting from the biodiesel production process. **Applied Energy**. 2011. v.88, p.3454-3463.

EUROPEAN COMMISSION DIRECTIVE 98/15/EC of 27 February 1998. **Official Journal of the European Communities**. 1998.

FENG, Y; LI, C.; ZHANG, D. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.101-105.

FOGG, G.E. **Algal cultures and phytoplankton ecology**. Madison: The University of Wisconsin Press, 1965. 126p.

FORTIER, M.O.P.; STURM, B.S.M. Geographic analysis of the feasibility of collocating algal biomass production with wastewater treatment plants. **Environment Science & Technology**. 2012. v.46, p.11426-11434.

FRIGON, J.C.; MATTEAU-LEBRUN, F.; ABDOU, R.H.; McGINN, P.J.; O'LEARY, S.J.B.; GUIOT, S.R. Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. **Applied Energy**. 2013. v.108, p.100-107.

GAVRILESCU, M.; CHISTI, Y. Biotechnology—a sustainable alternative for chemical industry. **Biotechnology Advances**. 2005. v.23 p.471–499.

GUILLARD, R.R.L.. Purification methods for microalgae. In: ANDERSEN, Robert A. **Algal culturing techniques**. Phycological Society of America. Elsevier Academic Press, 2005. cap.8, p.117-132.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G.M.; DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2010. v.14, p.1037-1047.

HOLM-NIELSEN, J.B.; AL SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**. 2009. v.100, p.5478–5484.

HU, Q. Environmental effects on cell composition. In: Richmond A, editor. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2004. p 83–93.

HUANG, G.; CHEN,F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**. 2010. v.87, p.38-46.

HUNTLEY, M. E.; REDALJE, D.G. CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. **Mitigation Adapt Strat Global Change**. 2007. v.12, p.573–608.

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

JORDÃO, E.P., PESSÔA, C.A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ed., Rio de Janeiro, 2005. 960p.

KAPDAN, I.K.; KARGI, F. Bio-hydrogen production from waste materials. **Enzyme Microbial Technology**. 2006. v.38, p.569–582.

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

KNOTHE, G.; DUNN, R.O.; BAGBY, M.O. Biodiesel: the use of vegetable oils and their derivatives as alternative diesel fuels. **ACS Symposium Series**. 1997, v.666, p.172–208.

KÖNIG, A. **Aspectos Teóricos e Práticos sobre Algas e Parasitos Intestinais em Estação de Tratamento de Esgotos**. Fundação Ecosistemas do Espírito Santo, Vitória, 1998.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. Review. **Trends in Biotechnology**. 2010. v.28, p.371-380.

LETTINGA, G.; van VELSEN, F.M.; HOBMA, S.W.; ZEEUW, W.; KLAPWIJK, A. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) – reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. **Biotechnology and Bioengineering**. 1980. v.22, n.4, p.699-734.

LI, Y.; YI-FENG, C.; CHEN, P.; MIN, M.; ZHOU, W.; MARTINEZ, B. Characterization of microalga *Chlorella* sp. Well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.5138-5144.

LIU, J.; HUANG, J.; SUN, Z.; ZHONG, Y.; JIANG, Y.; CHEN, F. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: Assessment of algal oils for biodiesel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.106-110.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e aplicações**. São Carlos-SP: Editora RiMa, 2006. 588p.

MENGER-KRUG, E.; NIEDERSTE-HOLLENBERG, J.; HILLENBRAND, T.; HIESSL, H. Integration of microalgae systems at municipal wastewater treatment plants: implications for energy and emission balances. **Environmental Science & Technology**. 2012. v.46, p.11505-11514.

MOHEIMANI, N.R.; BOROWITZKA, M.A. Limits to productivity of the alga *Pleurochrosis carterae* (Haptophyta) grown in outdoor raceway ponds. **Biotechnology and Bioengineering**, 2007. v.96, Issue 1, p.27-36.

MOLINA, E.; FERNÁNDEZ, J.; ACIÉN, F.; CHISTI, Y. Tubular photobioreactor desing for algal cultures. **Journal of Biotechnology**. 2001. v.92, p.113-131.

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; BUYER, J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different

manure loading rates. **Journal Applied Phycology**. Springer Science. 2008. v.20, n.6, p.1079-1085.

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; BUYER, J. Treatment of dairy and swine manure effluents using freshwater algae: fatty acid content and composition of algal biomass at different manure loading rates. **Journal Applied Phycology**. 2008. v.20, n.6, p.1079-1085.

MUTANDA, T.; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.57-70.

NAGLE, N.; LEMKE, P. Production of methyl-ester fuel from microalgae. **Appl Biochem Biotechnology**, 1990. v.24, n.5, p.355–61.

NUVOLARI, A. **Esgoto Sanitário: Coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. São Paulo: Ed. Blücher - FATEC-SP/CEETEPs/FAT, 2003. 520p.

OLIVEIRA, F.F.; GONÇALVES, R.F. **Readaptação de ETEs com lagoas de estabilização a rigorosos padrões de qualidade através de biofiltros aerados submersos**. ENCARTE TECNICO DA REVISTA BIO ENG. SANIT. E AMB. 1996. v.4, n.3, p.46-52.

PARK, J.B.K.; CRAGGS, R.J.; SHILTON, A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. 2010. **Bioresource Technology**. 2011. v.105, n.3, p.35-42.

PECCIA, J.; HAZNEDAROGLU, B.; GUTIERREZ, J.; ZIMMERMAN, J.B. Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. **Trends in Biotechnology**. 2013. v.31, p. 134-138.

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

RAZZAK, S.A.; HOSSAIN, M.M.; LUCKY, R.A.; BASSI, A.S.; LASA, H. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2013. v.27, p.622-653.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: bio- technology and applied**

phycology. Blackwell Science, Oxford, UK, 2004. 566p.

ROCHA, M.L.A. F.; RIBEIRO, E.N.; VERONEZ, F.A.; RORIZ, G.M.; GONÇALVES, R.F. Polimento do efluente de lagoas facultativas através de coagulação/floculação/decantação. In: 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro. ABES. **Anais...**, 1999.

SAWAYAMA, S.; INOUE, S.; DOTE, Y.; YOKOYAMA, S.Y. CO₂ fixation and oil production through microalga. **Energy Conversion and Management**. 1995. v.36, p.729–31.

SCHENK, P.M.; STEPHENS, E.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Research**. 2008. v.1, p.20-43.

SHIFRIN, N.S.; CHISHOLM, S.W. Phytoplankton lipids: Interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. **Journal Phycology**. 1981. v.17, p.374–384.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Review**. 2010. v.14, p.2596-2610.

SIRQUEIRA, D.B.; OLIVEIRA-FILHO, E.C. **Cianobactérias de águas doce e saúde pública: uma revisão**. Universitas Ciência da Saúde. 2005. v.3, n.1, p.109-127.

SMITH, V.H.; SCHINDLER, D.W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology and Evolution**. 2009. v.24, n.4, p.201-207.

SYDNEY, E.B.; SILVA, T.E. da; TOKARSKI, A.; NOVAK, A.C.; CARVALHO, J.C.; WOICIECOHWSKI, A.L.; LARROCHE, C.; SOCCOL, C.R. Screening of microalgae with potencial for biodiesel production and nutrient removal from treated domestic sewage. **Applied Energy**. 2011. v.88, p.3291-3294.

TOMAZ, P. **Poluição difusa**. São Paulo: Editora Navegar. 2006. 446p.

TORRENS, J.C.L. Adaptação e otimização de uma unidade geradora para utilização de biodiesel de microalgas.. **Monografia (Graduação)**: Curso de Engenharia Mecânica. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009. 104p.

TSALKATIDOU, M.; GRATZIOU, M.; KOTSOVINOS, N. Combined stabilization ponds–constructed wetland system. **Desalination**, 2009. v.248, p.988-997.

ZENG, X.; DANQUAH, M.K.; CHEN, X.D.; LU, Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2011. v.15, p.3252-3260.

ZHOU, W.; MIN, M.; LI, Y.; HU, B.; MA, X.; CHENG, Y.; LIU, Y.; CHEN, P.; RUAN, R. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. **Bioresource Technology**. 2012. v.110, p.448–455.

8 DISCUSSÃO FINAL

As microalgas apresentam a capacidade de transformar energia luminosa em energia química com rapidez. E o aproveitamento de águas residuárias para geração de biomassa de microalgas visando produção de biocombustíveis é uma alternativa promissora (Oswald e Goluecke, 1960). O aproveitamento dos nutrientes presentes em efluentes de tratamento de águas residuárias para produzir esta biomassa é uma estratégia para redução de custos de produção (Peccia *et al.*, 2013).

É de grande interesse se cultivar isolados de microalgas que já são adaptadas às condições físico-químicas de efluentes de tratamento de águas residuárias. Neste trabalho de pesquisa foram isolados de efluente de tratamento de esgoto sanitário, seis microalgas identificadas como *Desmodesmus* sp. L02; *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradasmus* sp. L09. Entre estas microalgas destacou-se a *Chlorella* sp. L06 por apresentar melhor crescimento, com sobrevivência média de $97,7 \pm 2,5\%$ quando cultivada sob condições de laboratório em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário por um reator tipo UASB. Este resultado demonstrou que a *Chlorella* sp. L06 tem capacidade competitiva para produção de biomassa em meio não estéril, com a presença de outros microrganismos que disputam nutrientes e de predadores naturais.

O crescimento dos isolados das microalgas em laboratório promoveu, após sua colheita, a remoção de mais de 90% de fósforo e de até 93% de nitrogênio no efluente de UASB autoclavado. E as biomassas secas das microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado apresentaram características físico-químicas com

valores médios de 25% de proteínas totais, 15,4% de lipídios totais e 14,8% de carboidratos totais.

A inserção de fontes de carbono no cultivo de microalgas é um dos recursos utilizados para aumentar a produtividade (Sawayama *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2013) seja inserção de CO₂ atmosférico (Esteves, 1998), CO₂ concentrado (Santos, 2012), gás de queima (Ge *et al.*, 2011) ou fontes sólidas de CO₂, a exemplo do bicarbonato de sódio (Cho *et al.*, 2011). Com exclusividade foram testadas as inserções de CaCO₃ como fonte de gás carbônico. Esta é uma via que pode permitir o armazenamento de CO₂ atmosférico ou de gases de queima pela reação de captura do CaO (cal) produzindo o carbonato de cálcio. Entre as cinco inserções de CO₂ testadas no cultivo dos isolados em EFA, o maior incremento foi observado com a inserção de 0,25% de NaHCO₃, seguido da inserção de 0,15% de CaCO₃.

Numa visão mais ampla do Projeto, a proposta inclui um novo modelo de Estação de Tratamento de Esgoto, que além do tratamento do esgoto sanitário, assuma a atribuição de otimizar a produção de biomassa algácea em fotobiorreatores construídos para substituir as lagoas de polimento tradicionais em sistemas secundários de tratamento de esgoto e que ocorra a utilização da biomassa algal para produção de biogás (Holm-Nielsen *et al.*, 2009; Harun *et al.*, 2010; Frigon *et al.*, 2013) ou produção de outros biocombustíveis, tais como, biodiesel (Chisti, 2007, Razzak *et al.*, 2013), etanol (Chisti, 2008; Chen *et al.*, 2013) ou via conversão termoquímica (Mutanda *et al.*, 2011; Barreiro *et al.*, 2013; Duan *et al.*, 2013). Inclui-se também a busca pela melhoria da qualidade final deste efluente (Martínez *et al.*,

2000), antes do seu lançamento em corpos hídricos e evite a eutrofização neste mananciais (Tomaz, 2006).

E para a produção de biomassa microalgácea em efluente de UASB foi projetado e construído um Reator Tubular Plástico Semi-Fechado (FBR-TPSF) em escala piloto. Os testes operacionais aplicados demonstraram que a aplicação do tempo de 1 (um) dia de detenção hidráulica apresentou o incremento de 71,3 mgSV/L e resultou na produtividade de 0,17kgSV/m³.d.

O perfil físico-químico do lodo microalgáceo seco produzido sob estas condições operacionais no FBR-TPSF foi de 25,1±0,5% de proteínas totais, 13,5±0,2% de lipídios totais, 9,7±0,6% de carboidratos totais e 52,9±0,1% de sólidos voláteis. Assim, mostrou-se como possíveis alternativas para a sua utilização: o incremento da produção de biogás gerado no tratamento anaeróbio tipo UASB, e o seu aproveitamento para geração de energia renovável. No entanto, é sugerida testes na aplicação de uma co-digestão antes do lançamento desta biomassa no UASB (Mutanda *et al.*, 2011) para evitar que a amônia gerada na digestão anaeróbia das proteínas promova a inibição dos microrganismos anaeróbios presentes no reator (Brennan e Owende, 2010).

Os resultados dos experimentos demonstraram a necessidade do desenvolvimento de novas pesquisas. Sugere-se investigar a inserção diferentes fontes de CO₂ no FBR-TPSF; estudar o efeito da inoculação com isolados de microalgas sobre a produção de biomassa; controlar efeitos como luminosidade e temperatura para análise de fatores individualizados; aplicar métodos para controle de predadores de microalgas, tais como, protozoários e rotíferos; e testar adaptações estruturais no

FBR-TPSF, tais como, diâmetro dos tubos plásticos e redução áreas escuras no FBR.

A utilização da biomassa microalgácea para produção de biocombustíveis também requer investigações. Principalmente como forma de incrementar a geração de energia dentro de Estações de Tratamento de Esgoto. Questões como toxicidade, rentabilidade, viabilidade econômica e praticidade do sistema também necessitam de investigações nas etapas seguintes do Projeto mais amplo.

9 CONCLUSÕES FINAIS

- O efluente do tratamento anaeróbio de esgoto por reator tipo UASB, apresentou resultados positivos no cultivo de microalgas, com disponibilidade de nutrientes e características físico-químicas, como turbidez e pH, capazes de produzir biomassa microalgácea de culturas mistas ou de isolados de microalgas;
- Entre os seis isolados de microalgas obtidos de efluente de tratamento de esgoto, a microalga *Chlorella* sp. L06 apresentou melhor adaptabilidade ao efluente de UASB natural, e demonstrou potencial para sua utilização como inóculo para cultivos em fotobiorreatores em grande escala, pois tem “competitividade” com os demais organismos presentes em efluente não estéril;
- A inserção de 0,25% de NaHCO_3 ou de 0,15% CaCO_3 resultou nos maiores aumentos de produtividade de clorofila-a dos isolados cultivados em efluente de UASB autoclavado, em especial a *Chlorella* sp. L06 que respondeu com os maiores incrementos nas taxas de crescimento;
- Os testes operacionais do Fotobiorreator Tubular Plástico Semi Fechado (FBR-TPSF) com tempo de detenção hidráulico de 1 (um) dia resultou na maior produtividade de biomassa, $0,17 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$;
- O efluente final após a colheita da biomassa microalgácea, apresentou remoção de até 95,4% de fósforo e 93% de nitrogênio nos cultivos realizados sob condições de laboratório. E os resultados demonstraram que o crescimento das

microalgas, nestas condições, foi capaz de aproveitar estes nutrientes disponíveis e melhorar a qualidade do efluente de UASB;

- A caracterização físico-química da biomassa microalgácea seca apresentou um perfil físico-químico que indicou a possibilidade de sua utilização na produção de biocombustíveis. No entanto, estudos devem ser desenvolvidos no sentido de elucidar qual aplicação de maior eficiência e viabilidade. É sugerida a via de conversão por digestão anaeróbia para a produção de CH_4 na forma de biogás ou por conversão termoquímica.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS FINAIS

BARREIRO, D.L.; PRINS, W.; RONSSE, F.; BRILMAN, W. Hydrothermal liquefaction (HTL) of microalgae for biofuel production: State of the art review and future prospects. **Biomass and Bioenergy**. 2013. v.53, p.113-127.

BRASIL **Resolução CONAMA nº 357, de 17 março de 2005**. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da União. Brasília, 2005.

BRASIL. **Resolução CONAMA nº430, de 13 de maio de 2011**. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Diário Oficial da União. Brasília, 2011.

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

CHEN, C.Y.; ZHAO, X.Q.; YEN, H.W.; HO, S.H.; CHENG, C.L.; LEE, D.J.; BAI, F.W.; CHANG, J.S. Microalgae-based carbohydrates for biodiesel production. **Biochemical Engineering Journal**. 2013. v.78, p.1-10.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**. 2008. v.26(3), p.126-131.

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

CHO, S.; LUONG, T.T.; LEE, D.; OH, Y-K.; LEE, T. Reuse of effluent water from municipal wastewater treatment plant in microalgae cultivation for biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.8639-8645.

DUAN, P.; BAI, X.; XU, Y.; ZHANG, A.; WANG, F.; ZHANG, L.; MIAO, J. Non-catalytic hydrolysis of microalgae to produce liquid biofuels. **Bioresource Technology**. 2013. v.136, p.626-634.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2a ed. Inteligência, Rio de Janeiro, Brasil, 1998. 602 p.

FRIGON, J.C.; MATTEAU-LEBRUN, F.; ABDOU, R.H.; MCGINN, P.J.; O'LEARY, S.J.B.; GUIOT, S.R. Screening microalgae strains for their productivity in methane following anaerobic digestion. **Applied Energy**. 2013. v.108, p.100-107.

GE, Y.; LIU, J.; TIAN, G. Growth characteristics of *Botryococcus braunii* 765 under high CO₂ concentration in photobioreactor. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.130-134.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G.M.; DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2010. v.14, p.1037-1047.

HOLM-NIELSEN, J.B.; AL SEADI, T.; OLESKOWICZ-POPIEL, P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. **Bioresource Technology**. 2009. v.100, p.5478–5484.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, X.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, X.; LANGENHOVE, H. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. Review. **Trends in Biotechnology**. 2010. v.28, p.371-380.

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

MUTANDA, T.; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, F. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**. 2011. v.102, p.57-70.

OSWALD, W.J.; GOLUEKE, C.G. Biological transformations of solar energy. **Advanced Applied Microbiology**. 1960. v.2, p.223–262.

PECCIA, J.; HAZNEDAROGLU, B.; GUTIERREZ, J.; ZIMMERMAN, J.B. Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production. **Trends in Biotechnology**. 2013. v.31, p.134-138.

RAZZAK, S.A.; HOSSAIN, M.M.; LUCKY, R.A.; BASSI, A.S.; LASA, H. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 2013. v.27, p.622-653.

SANTOS, J.N. Potencial de fixação de CO₂ por microalgas como uma possível contribuição ao “desenvolvimento limpo”. **Dissertação**. Salvador: UFBA, 2012. 71p.

SAWAYAMA, S.; INOUE, S.; DOTE, Y.; YOKOYAMA, S.Y. CO₂ fixation and oil production through microalga. **Energy Conversion and Management**. 1995. v.36, p.729–31.

SHARMA, Y.C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S.N. Advancements in development and characterization of biodiesel: A review. **Fuel**. 2008. v.87, p.2355–2373.

TOMAZ, P. **Poluição difusa**. São Paulo: Editora Navegar. 2006. 446p.

APÊNDICES

APÊNDICE I.1

Médias diárias do **número de células dos isolados** de microalgas/mL no cultivo de em efluente de UASB natural (EFN), sob condições de laboratório (média±desvio padrão, n=6).

| Isolado | Médias diárias do número de células de isolados de microalgas/mL | | | | | |
|-----------------------------|--|---|---|---|---|---|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | $1,7 \times 10^{+3} \pm 1,3 \times 10^{+3}$ | $2,9 \times 10^{+3} \pm 1,9 \times 10^{+3}$ | $6,7 \times 10^{+3} \pm 5,2 \times 10^{+3}$ | $5,4 \times 10^{+3} \pm 4,0 \times 10^{+3}$ | $7,9 \times 10^{+3} \pm 4,6 \times 10^{+3}$ | $1,1 \times 10^{+4} \pm 8,2 \times 10^{+3}$ |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | $1,1 \times 10^{+4} \pm 7,0 \times 10^{+3}$ | $6,7 \times 10^{+4} \pm 1,4 \times 10^{+4}$ | $2,0 \times 10^{+5} \pm 1,1 \times 10^{+5}$ | $2,6 \times 10^{+5} \pm 6,3 \times 10^{+4}$ | $5,3 \times 10^{+5} \pm 3,7 \times 10^{+4}$ | $8,2 \times 10^{+5} \pm 3,4 \times 10^{+4}$ |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | $2,1 \times 10^{+4} \pm 9,8 \times 10^{+3}$ | $3,4 \times 10^{+4} \pm 3,3 \times 10^{+4}$ | $1,1 \times 10^{+5} \pm 1,2 \times 10^{+5}$ | $1,2 \times 10^{+5} \pm 1,2 \times 10^{+5}$ | $2,8 \times 10^{+5} \pm 2,9 \times 10^{+5}$ | $1,7 \times 10^{+5} \pm 1,4 \times 10^{+5}$ |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | $3,0 \times 10^{+4} \pm 1,4 \times 10^{+4}$ | $2,6 \times 10^{+5} \pm 5,0 \times 10^{+4}$ | $9,5 \times 10^{+5} \pm 3,9 \times 10^{+5}$ | $1,4 \times 10^{+6} \pm 9,3 \times 10^{+5}$ | $2,6 \times 10^{+6} \pm 9,7 \times 10^{+5}$ | $3,7 \times 10^{+6} \pm 8,1 \times 10^{+5}$ |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | $6,3 \times 10^{+3} \pm 2,1 \times 10^{+3}$ | $1,5 \times 10^{+4} \pm 3,5 \times 10^{+3}$ | $4,2 \times 10^{+4} \pm 1,5 \times 10^{+4}$ | $7,4 \times 10^{+4} \pm 8,0 \times 10^{+3}$ | $1,4 \times 10^{+5} \pm 9,9 \times 10^{+3}$ | $1,7 \times 10^{+5} \pm 7,9 \times 10^{+4}$ |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | $7,5 \times 10^{+3} \pm 2,2 \times 10^{+3}$ | $6,8 \times 10^{+4} \pm 3,0 \times 10^{+4}$ | $2,0 \times 10^{+5} \pm 2,7 \times 10^{+4}$ | $5,3 \times 10^{+5} \pm 7,5 \times 10^{+4}$ | $7,9 \times 10^{+5} \pm 1,8 \times 10^{+5}$ | $1,7 \times 10^{+6} \pm 1,1 \times 10^{+6}$ |
| Isolado | (Continuação) | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | $1,4 \times 10^{+4} \pm 1,1 \times 10^{+4}$ | $1,1 \times 10^{+4} \pm 1,1 \times 10^{+4}$ | $1,5 \times 10^{+4} \pm 1,5 \times 10^{+4}$ | $2,8 \times 10^{+4} \pm 2,9 \times 10^{+4}$ | $4,2 \times 10^{+4} \pm 4,5 \times 10^{+4}$ | |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | $9,0 \times 10^{+5} \pm 1,8 \times 10^{+5}$ | $9,5 \times 10^{+5} \pm 4,0 \times 10^{+5}$ | $1,2 \times 10^{+6} \pm 3,9 \times 10^{+5}$ | $1,7 \times 10^{+6} \pm 5,0 \times 10^{+4}$ | $2,0 \times 10^{+6} \pm 5,0 \times 10^{+4}$ | |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | $1,2 \times 10^{+5} \pm 5,7 \times 10^{+4}$ | $3,1 \times 10^{+5} \pm 2,7 \times 10^{+5}$ | $5,4 \times 10^{+5} \pm 4,9 \times 10^{+5}$ | $8,8 \times 10^{+5} \pm 8,3 \times 10^{+5}$ | $1,1 \times 10^{+6} \pm 1,0 \times 10^{+6}$ | |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | $4,5 \times 10^{+6} \pm 5,3 \times 10^{+5}$ | $4,8 \times 10^{+6} \pm 2,7 \times 10^{+5}$ | $5,9 \times 10^{+6} \pm 3,1 \times 10^{+5}$ | $7,1 \times 10^{+6} \pm 1,2 \times 10^{+6}$ | $9,3 \times 10^{+6} \pm 2,4 \times 10^{+6}$ | |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | $2,3 \times 10^{+5} \pm 1,6 \times 10^{+5}$ | $4,2 \times 10^{+5} \pm 1,4 \times 10^{+5}$ | $7,5 \times 10^{+5} \pm 5,2 \times 10^{+4}$ | $1,1 \times 10^{+6} \pm 2,8 \times 10^{+4}$ | $1,4 \times 10^{+6} \pm 1,4 \times 10^{+5}$ | |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | $2,7 \times 10^{+6} \pm 2,0 \times 10^{+6}$ | $2,6 \times 10^{+6} \pm 1,7 \times 10^{+6}$ | $2,7 \times 10^{+6} \pm 1,5 \times 10^{+6}$ | $2,9 \times 10^{+6} \pm 1,3 \times 10^{+6}$ | $3,2 \times 10^{+6} \pm 1,1 \times 10^{+6}$ | |

APÊNDICE I.2

Médias diárias do **número de células total** de microalgas/mL no cultivo de em efluente de UASB natural (EFN), sob condições de laboratório (média±desvio padrão, n=6).

| Isolado | Médias diárias do número de células total de microalgas/mL | | | | | |
|-----------------------------|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | $2,3 \times 10^4 \pm 1,6 \times 10^4$ | $1,6 \times 10^5 \pm 1,6 \times 10^5$ | $5,7 \times 10^5 \pm 5,7 \times 10^5$ | $1,2 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$ | $1,9 \times 10^6 \pm 1,3 \times 10^6$ | $2,7 \times 10^6 \pm 1,3 \times 10^6$ |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | $4,8 \times 10^4 \pm 3,8 \times 10^4$ | $2,8 \times 10^5 \pm 2,1 \times 10^5$ | $7,2 \times 10^5 \pm 6,1 \times 10^5$ | $1,3 \times 10^6 \pm 1,0 \times 10^6$ | $1,8 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$ | $1,9 \times 10^6 \pm 8,1 \times 10^5$ |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | $5,0 \times 10^4 \pm 1,4 \times 10^4$ | $2,3 \times 10^5 \pm 5,5 \times 10^4$ | $7,6 \times 10^5 \pm 4,1 \times 10^5$ | $1,5 \times 10^6 \pm 9,1 \times 10^5$ | $2,3 \times 10^6 \pm 9,1 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^6 \pm 8,1 \times 10^5$ |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | $3,3 \times 10^4 \pm 1,4 \times 10^4$ | $2,7 \times 10^5 \pm 5,5 \times 10^4$ | $9,7 \times 10^5 \pm 4,1 \times 10^5$ | $1,5 \times 10^6 \pm 9,1 \times 10^5$ | $2,6 \times 10^6 \pm 9,1 \times 10^5$ | $3,7 \times 10^6 \pm 8,1 \times 10^5$ |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | $2,9 \times 10^4 \pm 2,3 \times 10^4$ | $2,2 \times 10^5 \pm 2,1 \times 10^5$ | $6,8 \times 10^5 \pm 6,5 \times 10^5$ | $1,2 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$ | $1,4 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$ | $1,5 \times 10^6 \pm 9,8 \times 10^5$ |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | $4,0 \times 10^4 \pm 3,3 \times 10^4$ | $2,1 \times 10^5 \pm 1,1 \times 10^5$ | $8,0 \times 10^5 \pm 5,9 \times 10^5$ | $2,0 \times 10^6 \pm 2,6 \times 10^5$ | $2,6 \times 10^6 \pm 1,4 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^6 \pm 5,0 \times 10^5$ |
| Isolado | (Continuação) | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | $3,7 \times 10^6 \pm 4,4 \times 10^5$ | $5,9 \times 10^6 \pm 8,1 \times 10^5$ | $6,3 \times 10^6 \pm 3,3 \times 10^5$ | $6,1 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$ | $7,7 \times 10^6 \pm 3,9 \times 10^6$ | |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | $2,1 \times 10^6 \pm 5,0 \times 10^4$ | $1,9 \times 10^6 \pm 3,0 \times 10^5$ | $2,2 \times 10^6 \pm 1,5 \times 10^5$ | $2,8 \times 10^6 \pm 2,2 \times 10^5$ | $3,0 \times 10^6 \pm 3,9 \times 10^5$ | |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | $2,6 \times 10^6 \pm 4,9 \times 10^5$ | $2,7 \times 10^6 \pm 2,8 \times 10^5$ | $3,1 \times 10^6 \pm 3,3 \times 10^5$ | $3,6 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$ | $4,5 \times 10^6 \pm 2,4 \times 10^6$ | |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | $4,6 \times 10^6 \pm 4,9 \times 10^5$ | $4,9 \times 10^6 \pm 2,8 \times 10^5$ | $5,9 \times 10^6 \pm 3,3 \times 10^5$ | $7,1 \times 10^6 \pm 1,2 \times 10^6$ | $9,3 \times 10^6 \pm 2,4 \times 10^6$ | |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | $2,2 \times 10^6 \pm 4,1 \times 10^5$ | $3,1 \times 10^6 \pm 6,9 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^6 \pm 4,5 \times 10^5$ | $3,9 \times 10^6 \pm 5,6 \times 10^5$ | $4,3 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$ | |
| <i>Tetrademus</i> sp. L09 | $4,0 \times 10^6 \pm 7,8 \times 10^5$ | $3,8 \times 10^6 \pm 6,5 \times 10^5$ | $4,1 \times 10^6 \pm 6,1 \times 10^5$ | $4,2 \times 10^6 \pm 3,9 \times 10^5$ | $5,1 \times 10^6 \pm 3,3 \times 10^5$ | |

APÊNDICE I.3

Análise de variância* (ANOVA) entre teores (%) de **proteínas totais**, **lipídios totais** e **carboidratos totais** na biomassa seca do cultivo de seis isolados de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) sob condições laboratoriais (n=18).

| FONTES DE VARIAÇÃO | GL | SQ | QM |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 2 | 1,180 | 588,0 |
| Erro | 51 | 3,210 | 63,0 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 9,3317 | --- | --- |
| (p) = | 0,0006 | --- | --- |
| Média Proteínas totais | 25,0222 | --- | --- |
| Média Lipídios totais | 15,4333 | --- | --- |
| Média Carboidratos totais | 14,8389 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|--------------------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (prot e lip) = | 9,5889 | 3,6239 | < 0,001 |
| Médias (prot e carb) = | 10,1833 | 3,8486 | < 0,001 |
| Médias (lip e carbo) = | 0,5944 | 0,2247 | ns |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE I.4

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores (5) de **proteínas totais** da biomassa seca dos seis isolados de microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado (EFA), sob condições laboratoriais.

| FONTES DE VARIAÇÃO | GL | SQ | QM |
|---------------------------------------|---------|-------|-------|
| Tratamentos | 5 | 1.130 | 226,8 |
| Erro | 12 | 317,0 | 26,4 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 8,5847 | --- | --- |
| (p) = | 0,0015 | --- | --- |
| Média 1 = <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 23,5000 | --- | --- |
| Média 2 = <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 27,7667 | --- | --- |
| Média 3 = <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 39,6333 | --- | --- |
| Média 4 = <i>Chlorella</i> sp. L06 | 22,9333 | --- | --- |
| Média 5 = <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 12,8667 | --- | --- |
| Média 6 = <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 23,4333 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|-----------|--------|---------|
| Médias (1 e 2) = | 4,2667 | 1,0167 | ns |
| Médias (1 e 3) = | 16,1333 | 3,8443 | 0,0023 |
| Médias (1 e 4) = | 0,5667 | 0,1350 | ns |
| Médias (1 e 5) = | 10,6333 | 2,5338 | 0,0262 |
| Médias (1 e 6) = | 0,0667 | 0,0159 | ns |
| Médias (2 e 3) = | 11,8667 | 2,8277 | 0,0152 |
| Médias (2 e 4) = | 4,8333 | 1,1517 | ns |
| Médias (2 e 5) = | 14,9000 | 3,5505 | 0,0040 |
| Médias (2 e 6) = | 4,3333 | 1,0326 | ns |
| Médias (3 e 4) = | 16,7000 | 3,9794 | 0,0018 |
| Médias (3 e 5) = | 26,7667 | 6,3781 | < 0,001 |
| Médias (3 e 6) = | 16,2000 | 3,8602 | 0,0023 |
| Médias (4 e 5) = | 10,0667 | 2,3987 | 0,0335 |
| Médias (4 e 6) = | 0,5000 | 0,1191 | ns |
| Médias (5 e 6) = | 10,5667 | 2,5179 | 0,0270 |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE I.5

Análise de variância* (ANOVA) entre teores (%) de **lipídios totais** da biomassa seca dos seis isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB autoclavado (EFA), sob condições laboratoriais.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL | SQ | QM |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 5 | 39,540 | 7,908 |
| Erro | 12 | 35,560 | 2,963 |
| F = | 2,6686 | | |
| (p) = | 0,0758 | | |

*Estatística realizada no programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE I.6

Análise de variância* (ANOVA) entre teores (%) de **carboidratos totais** da biomassa seca dos seis isolados de microalgas cultivados em efluente de UASB autoclavado (EFA), sob condições laboratoriais.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL | SQ | QM |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 5 | 790,709 | 158,142 |
| Erro | 12 | 896,813 | 74,734 |
| F = | 2,1161 | | |
| (p) = | 0,1333 | | |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE I.7

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores (%) de **sólidos voláteis** (mg/L) da biomassa seca dos seis isolados de microalgas cultivadas em efluente de UASB autoclavado (EFA), sob condições laboratoriais.

| FONTES DE VARIAÇÃO | GL | SQ | QM |
|---------------------------------------|----------|---------|--------|
| Tratamentos | 5 | 206,009 | 41,202 |
| Erro | 12 | 14,287 | 1,191 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 34,6073 | --- | --- |
| (p) = | < 0,0001 | --- | --- |
| Média 1 = <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 67,4667 | --- | --- |
| Média 2 = <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 61,3000 | --- | --- |
| Média 3 = <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 61,7667 | --- | --- |
| Média 4 = <i>Chlorella</i> sp. L06 | 66,0667 | --- | --- |
| Média 5 = <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 70,0333 | --- | --- |
| Média 6 = <i>Tetradasmus</i> sp. L09 | 69,2000 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|-----------|--------|---------|
| Médias (1 e 2) = | 6,1667 | 6,9218 | < 0,001 |
| Médias (1 e 3) = | 5,7000 | 6,3980 | < 0,001 |
| Médias (1 e 4) = | 1,4000 | 1,5714 | ns |
| Médias (1 e 5) = | 2,5667 | 2,8810 | 0,0138 |
| Médias (1 e 6) = | 1,7333 | 1,9456 | ns |
| Médias (2 e 3) = | 0,4667 | 0,5238 | ns |
| Médias (2 e 4) = | 4,7667 | 5,3504 | < 0,001 |
| Médias (2 e 5) = | 8,7333 | 9,8028 | < 0,001 |
| Médias (2 e 6) = | 7,9000 | 8,8674 | < 0,001 |
| Médias (3 e 4) = | 4,3000 | 4,8266 | < 0,001 |
| Médias (3 e 5) = | 8,2667 | 9,2790 | < 0,001 |
| Médias (3 e 6) = | 7,4333 | 8,3436 | < 0,001 |
| Médias (4 e 5) = | 3,9667 | 4,4524 | < 0,001 |
| Médias (4 e 6) = | 3,1333 | 3,5170 | 0,0042 |
| Médias (5 e 6) = | 0,8333 | 0,9354 | ns |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE I.8

Resultados da análise dos **parâmetros físico-químicos** do efluente de UASB autoclavado (EFA) e dos sobrenadantes dos cultivos dos isolados de microalgas em EFA após adição de 250 mg/L de sulfato de alumínio ($x \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| Amostra | Parâmetros Físico-químicos | | | | | |
|--------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| | Clorofila-a $\mu\text{g/L}$ | pH | Turbidez NTU | DQO mg.L^{-1} | Fósforo mgP.L^{-1} | Nitrogênio mgN.L^{-1} |
| EFA | — | $8,5 \pm 0,0$ | $73,8 \pm 0,1$ | $184,3 \pm 6,1$ | $7,1 \pm 0,2$ | $26,5 \pm 0,3$ |
| EFA-final | — | $6,5 \pm 0,0$ | $29,2 \pm 7,1$ | $116,4 \pm 7,1$ | $3,7 \pm 0,4$ | $25,7 \pm 0,3$ |
| Sobrenadante | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | $66,1 \pm 5,8$ | $5,3 \pm 0,0$ | $2,1 \pm 0,2$ | $93,2 \pm 0,0$ | $1,5 \pm 0,0$ |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | $14,0 \pm 0,7$ | $6,5 \pm 0,0$ | $2,2 \pm 0,1$ | $100,9 \pm 13,9$ | $0,7 \pm 0,0$ |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | $61,3 \pm 4,5$ | $4,1 \pm 0,0$ | $1,6 \pm 0,2$ | $82,4 \pm 8,3$ | $0,8 \pm 0,0$ |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | $99,1 \pm 26,6$ | $4,5 \pm 0,0$ | $3,1 \pm 0,4$ | $64,67 \pm 4,8$ | $0,7 \pm 0,1$ |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | $67,7 \pm 5,4$ | $4,2 \pm 0,0$ | $2,2 \pm 0,3$ | $76,24 \pm 11,4$ | $0,8 \pm 0,2$ |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | $26,5 \pm 1,3$ | $4,2 \pm 0,0$ | $1,4 \pm 0,1$ | $58,50 \pm 12,7$ | $0,3 \pm 0,0$ |

APÊNDICE II.9

Resultados de **clorofila-a** ($\mu\text{g/L}$) para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais ($\bar{x} \pm \text{desvio padrão}$, $n=3$).

| %p/v NaHCO ₃ | Dias de cultivo | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 0,00% | 41,0 \pm 26,4 | 511,4 \pm 38,7 | 609,4 \pm 219,6 | 1609,1 \pm 495,4 | 1844,4 \pm 188,9 | 229,9 \pm 19,3 | 522,1 \pm 165,2 |
| 0,25% | 28,5 \pm 8,2 | 474,0 \pm 3,1 | 1069,2 \pm 136,5 | 1817,6 \pm 250,6 | 3229,0 \pm 580,4 | 732,4 \pm 607,4 | 1356,1 \pm 1111,0 |
| 0,50% | 16,0 \pm 9,3 | 235,2 \pm 45,4 | 1062,1 \pm 252,1 | 1785,6 \pm 353,0 | 1545,0 \pm 589,0 | 1167,2 \pm 110,9 | 1122,7 \pm 861,2 |
| 0,75% | 14,3 \pm 3,1 | 213,8 \pm 71,9 | 504,3 \pm 186,9 | 858,9 \pm 146,8 | 1477,3 \pm 337,4 | 623,7 \pm 271,8 | 700,3 \pm 615,4 |
| 1,00% | 14,3 \pm 6,2 | 104,3 \pm 11,3 | 153,3 \pm 40,8 | 479,4 \pm 218,0 | 559,5 \pm 78,8 | 598,8 \pm 340,3 | 825,1 \pm 498,3 |

APÊNDICE II.10

Resultados de **pH** para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais ($\bar{x} \pm \text{desvio padrão}$, $n=3$).

| %p/v NaHCO ₃ | Dias de cultivo | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 0,00% | 7,7 \pm 0,1 | 8,7 \pm 0,1 | 9,3 \pm 0,0 | 9,8 \pm 0,1 | 10,0 \pm 0,1 | 9,5 \pm 0,1 | 9,5 \pm 0,1 |
| 0,25% | 8,2 \pm 0,0 | 8,8 \pm 0,1 | 9,2 \pm 0,1 | 9,5 \pm 0,0 | 10,0 \pm 0,1 | 10,2 \pm 0,0 | 9,9 \pm 0,2 |
| 0,50% | 8,3 \pm 0,0 | 8,7 \pm 0,0 | 9,1 \pm 0,0 | 9,4 \pm 0,0 | 9,7 \pm 0,0 | 9,9 \pm 0,0 | 9,8 \pm 0,0 |
| 0,75% | 8,3 \pm 0,0 | 8,7 \pm 0,0 | 9,1 \pm 0,0 | 9,3 \pm 0,0 | 9,5 \pm 0,0 | 9,7 \pm 0,0 | 9,7 \pm 0,0 |
| 1,00% | 8,3 \pm 0,0 | 8,7 \pm 0,0 | 9,0 \pm 0,0 | 9,2 \pm 0,0 | 9,4 \pm 0,0 | 9,6 \pm 0,0 | 9,6 \pm 0,0 |

APÊNDICE II.11

Resultados de **turbidez** (NTU) para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais (\bar{x} ±desvio padrão, n=3).

| %p/v NaHCO ₃ | Dias de cultivo | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|----------|----------|------------|------------|------------|-------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 0,00% | 7,3±0,8 | 22,7±1,3 | 66,4±8,6 | 125,3±17,2 | 169,3±11,2 | 201,3±12,5 | 237,0±16,7 |
| 0,25% | 7,3±0,3 | 19,5±0,8 | 57,1±1,4 | 152,7±16,7 | 314,7±10,7 | 382,3±28,3 | 292,3±144,1 |
| 0,50% | 6,9±0,5 | 14,0±0,5 | 43,1±1,4 | 151,0±33,8 | 273,3±6,4 | 380,0±13,1 | 296,3±187,3 |
| 0,75% | 7,0±0,8 | 11,3±0,5 | 37,1±3,3 | 87,0±53,8 | 178,7±41,8 | 227,3±45,0 | 212,3±108,2 |
| 1,00% | 6,6±0,9 | 8,0±0,3 | 19,8±1,3 | 44,0±10,5 | 62,7±21,4 | 163,7±56,4 | 217,7±73,4 |

APÊNDICE II.12

Resultados de **clorofila-a** ($\mu\text{g/L}$) para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais. ($x \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| %p/v CaCO ₃ | Dias de cultivo | | | | | | |
|---------------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 0,00% | 82,0 \pm 8,2 | 629,0 \pm 72,2 | 2398,6 \pm 287,0 | 4059,4 \pm 160,5 | 5749,9 \pm 413,1 | 5957,8 \pm 581,9 | 7906,1 \pm 517,2 |
| 0,05% | 73,1 \pm 8,2 | 678,9 \pm 61,7 | 2448,5 \pm 298,0 | 4053,5 \pm 234,3 | 5643,0 \pm 488,8 | 6831,0 \pm 219,9 | 7882,4 \pm 288,6 |
| 0,10% | 105,1 \pm 38,7 | 655,8 \pm 103,2 | 2662,3 \pm 529,3 | 4060,0 \pm 261,9 | 5001,5 \pm 909,1 | 6338,0 \pm 331,2 | 7668,5 \pm 247,1 |
| 0,15% | 67,7 \pm 3,1 | 589,8 \pm 37,5 | 2377,2 \pm 200,7 | 4105,7 \pm 426,1 | 5845,0 \pm 249,5 | 6575,6 \pm 258,9 | 8232,8 \pm 524,7 |
| 0,20% | 87,3 \pm 21,6 | 686,1 \pm 126,3 | 2676,6 \pm 577,4 | 4601,1 \pm 934,2 | 5821,2 \pm 427,1 | 6593,4 \pm 180,9 | 8007,1 \pm 259,7 |

APÊNDICE II.13

Resultados de **pH** para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais. ($x \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| %p/v CaCO ₃ | Dias de cultivo | | | | | | |
|---------------------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 0,00% | 9,3 \pm 0,0 | 9,1 \pm 0,0 | 10,5 \pm 0,5 | 10,5 \pm 0,0 | 10,5 \pm 0,1 | 10,7 \pm 0,0 | 10,9 \pm 0,0 |
| 0,05% | 9,4 \pm 0,0 | 9,1 \pm 0,0 | 10,3 \pm 0,5 | 10,5 \pm 0,0 | 10,3 \pm 0,1 | 10,7 \pm 0,2 | 10,9 \pm 0,0 |
| 0,10% | 9,3 \pm 0,0 | 9,1 \pm 0,0 | 10,5 \pm 0,7 | 10,6 \pm 0,1 | 10,5 \pm 0,1 | 10,7 \pm 0,1 | 10,8 \pm 0,1 |
| 0,15% | 9,3 \pm 0,0 | 9,0 \pm 0,0 | 10,2 \pm 0,5 | 10,5 \pm 0,1 | 10,2 \pm 0,1 | 10,7 \pm 0,1 | 10,8 \pm 0,1 |
| 0,20% | 9,3 \pm 0,0 | 9,0 \pm 0,1 | 10,3 \pm 0,5 | 10,5 \pm 0,1 | 10,3 \pm 0,1 | 10,7 \pm 0,1 | 10,8 \pm 0,1 |

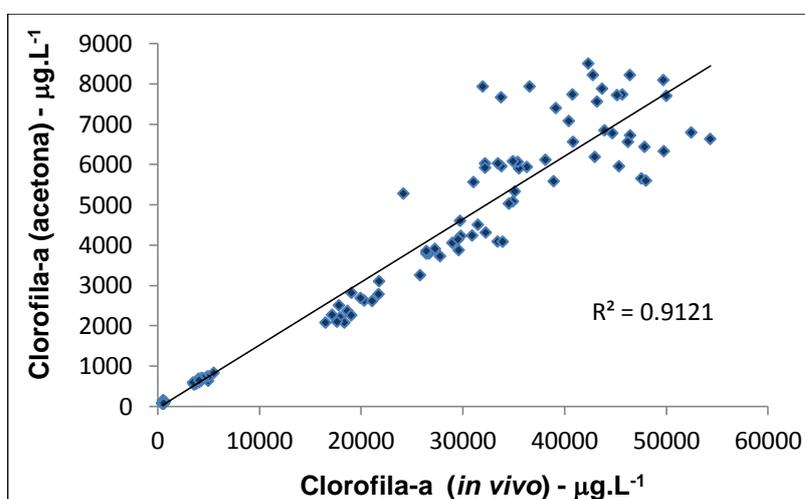
APÊNDICE II.14

Resultados de **turbidez** (NTU) para cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes doses de bicarbonato de sódio, sob condições laboratoriais (\bar{x} ±desvio padrão, n=3).

| %p/v CaCO ₃ | Dias de cultivo | |
|------------------------|-----------------|--------|
| | 0 | 12 |
| 0,00% | 74±6 | 877±51 |
| 0,05% | 368±5 | >1000 |
| 0,10% | 685±13 | >1000 |
| 0,15% | 984±6 | >1000 |
| 0,20% | >1000 | >1000 |

APÊNDICE II.15

Correlação linear entre análises de clorofila-a pelo método da extração com acetona (APHA, 2005) e pelo método *in vivo* de amostra de cultivo misto de microalgas em efluente UASB sob temperatura ambiente, luminosidade média de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro).



APÊNDICE II.16

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em meio efluente sintético (CHU-ES), sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em meio CHU-ES | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp, L02 | 3,4 \pm 0,8 | 10,6 \pm 0,7 | 16,5 \pm 2,7 | 22,0 \pm 1,0 | 31,9 \pm 3,5 | 44,6 \pm 8,4 | 63,6 \pm 18,8 | 114,3 \pm 41,4 | 333,8 \pm 137,2 |
| <i>Chlorococcum</i> sp, L04 | 6,4 \pm 0,3 | 38,3 \pm 1,2 | 92,4 \pm 6,7 | 126,4 \pm 11,3 | 429,4 \pm 128,6 | 610,9 \pm 154,8 | 786,9 \pm 242,8 | 813,2 \pm 162,8 | 1235,4 \pm 205,3 |
| <i>Coccomyxa</i> sp, L05 | 5,0 \pm 1,9 | 37,9 \pm 3,0 | 119,2 \pm 18,0 | 122,0 \pm 14,5 | 290,6 \pm 44,1 | 454,4 \pm 142,9 | 930,4 \pm 202,3 | 1238,8 \pm 236,9 | 1859,1 \pm 271,8 |
| <i>Chlorella</i> sp, L06 | 2,1 \pm 0,3 | 4,9 \pm 0,5 | 14,7 \pm 3,2 | 22,9 \pm 5,1 | 77,3 \pm 25,6 | 114,3 \pm 24,0 | 215,9 \pm 54,4 | 253,6 \pm 52,7 | 235,6 \pm 49,4 |
| <i>Scenedesmus</i> sp, L08 | 6,4 \pm 0,4 | 37,2 \pm 3,2 | 78,1 \pm 11,5 | 105,2 \pm 10,1 | 200,6 \pm 30,1 | 325,5 \pm 57,8 | 607,3 \pm 99,4 | 949,6 \pm 178,8 | 1446,3 \pm 224,3 |
| <i>Tetrademus</i> sp, L09 | 6,0 \pm 1,5 | 35,5 \pm 0,8 | 68,3 \pm 10,5 | 112,9 \pm 13,1 | 249,3 \pm 35,5 | 584,1 \pm 112,1 | 842,2 \pm 178,8 | 954,6 \pm 151,5 | 1467,0 \pm 239,2 |
| Misto | 6,0 \pm 0,6 | 36,6 \pm 2,0 | 59,3 \pm 5,9 | 106,7 \pm 14,2 | 198,3 \pm 52,9 | 370,7 \pm 187,1 | 834,7 \pm 200,5 | 1086,4 \pm 125,1 | 1657,8 \pm 222,5 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp, L02 | 552,7 \pm 201,7 | 972,9 \pm 258,6 | 1292,5 \pm 292,9 | 2260,9 \pm 459,0 | 2440,0 \pm 412,8 | 2890,4 \pm 371,3 | 3496,1 \pm 542,4 | 3862,8 \pm 557,2 | 5680,4 \pm 961,2 |
| <i>Chlorococcum</i> sp, L04 | 1350,1 \pm 140,6 | 1591,7 \pm 104,1 | 1765,8 \pm 197,1 | 2061,1 \pm 258,8 | 2377,9 \pm 209,1 | 2746,2 \pm 223,3 | 2921,1 \pm 93,5 | 2957,6 \pm 215,9 | 3484,8 \pm 137,9 |
| <i>Coccomyxa</i> sp, L05 | 2090,6 \pm 308,2 | 2547,7 \pm 439,5 | 3041,6 \pm 523,4 | 4274,1 \pm 672,4 | 4505,3 \pm 571,9 | 4473,2 \pm 732,6 | 5120,7 \pm 629,6 | 5438,7 \pm 525,5 | 10500,4 \pm 1687,7 |
| <i>Chlorella</i> sp, L06 | 322,2 \pm 128,0 | 657,5 \pm 278,7 | 927,2 \pm 338,0 | 904,8 \pm 238,4 | 766,2 \pm 322,9 | 756,2 \pm 312,5 | 655,2 \pm 220,9 | 687,1 \pm 196,5 | 794,1 \pm 303,3 |
| <i>Scenedesmus</i> sp, L08 | 1516,8 \pm 378,3 | 1758,2 \pm 567,0 | 1937,9 \pm 704,8 | 3096,8 \pm 900,4 | 3258,6 \pm 767,1 | 3521,1 \pm 649,1 | 4547,8 \pm 897,5 | 4051,2 \pm 660,3 | 8347,9 \pm 2982,2 |
| <i>Tetrademus</i> sp, L09 | 1667,8 \pm 309,3 | 2029,2 \pm 347,6 | 2261,9 \pm 454,8 | 2825,6 \pm 413,7 | 3355,4 \pm 300,6 | 3879,2 \pm 129,9 | 4406,0 \pm 271,6 | 4200,9 \pm 245,7 | 5904,4 \pm 433,1 |
| Misto | 1942,2 \pm 325,8 | 2301,3 \pm 332,4 | 2528,0 \pm 159,7 | 2439,4 \pm 389,9 | 2340,6 \pm 475,8 | 1930,0 \pm 562,0 | 2203,1 \pm 901,9 | 1862,3 \pm 1090,5 | 2337,3 \pm 1301,2 |

APÊNDICE II.17

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA), sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA | | | | | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 108,2 \pm 27,8 | 114,2 \pm 4,7 | 124,9 \pm 12,6 | 206,1 \pm 151,0 | 310,3 \pm 249,3 | 443,2 \pm 390,1 | 713,9 \pm 578,4 | 1168,5 \pm 892,0 | 1707,3 \pm 1051,2 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 114,3 \pm 33,9 | 125,0 \pm 35,7 | 349,9 \pm 284,2 | 1767,8 \pm 2012,8 | 3858,8 \pm 3294,8 | 5114,3 \pm 3649,1 | 8822,6 \pm 5420,4 | 10004,2 \pm 3817,7 | 12415,6 \pm 3058,3 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 116,8 \pm 34,3 | 122,4 \pm 19,4 | 209,2 \pm 135,2 | 1203,0 \pm 1574,5 | 1610,7 \pm 1784,7 | 2504,6 \pm 2635,5 | 4569,9 \pm 3641,1 | 6123,8 \pm 3111,5 | 10039,3 \pm 4188,7 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 108,9 \pm 31,1 | 127,9 \pm 30,0 | 366,9 \pm 275,2 | 1897,8 \pm 2024,4 | 3427,8 \pm 2317,6 | 5272,9 \pm 2635,5 | 6728,0 \pm 3562,7 | 12463,8 \pm 5439,9 | 18573,3 \pm 6456,9 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 115,0 \pm 41,9 | 138,4 \pm 22,5 | 300,8 \pm 221,5 | 1542,8 \pm 1879,7 | 2887,5 \pm 2598,5 | 4230,9 \pm 3182,5 | 6956,2 \pm 4065,4 | 8987,2 \pm 3329,9 | 12014,4 \pm 2015,0 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 116,7 \pm 35,9 | 164,6 \pm 29,1 | 596,2 \pm 606,6 | 3450,8 \pm 4552,2 | 4901,7 \pm 4998,9 | 6255,2 \pm 5493,2 | 9696,8 \pm 6206,9 | 12055,9 \pm 6783,7 | 15281,4 \pm 7549,6 |
| Misto | 107,8 \pm 28,2 | 108,5 \pm 17,4 | 158,6 \pm 18,0 | 647,3 \pm 529,7 | 1685,6 \pm 737,2 | 2742,0 \pm 1049,8 | 7241,1 \pm 5905,7 | 8858,8 \pm 5662,3 | 10624,8 \pm 4406,2 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 2014,8 \pm 1062,9 | 2698,7 \pm 1145,5 | 3747,6 \pm 1476,6 | 5561,6 \pm 2179,2 | 6202,8 \pm 2237,1 | 6209,1 \pm 1757,2 | 7503,2 \pm 2710,1 | 8215,4 \pm 1967,9 | 9132,8 \pm 1778,8 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 14416,7 \pm 845,5 | 16864,4 \pm 1926,1 | 18104,4 \pm 2235,5 | 21446,7 \pm 3249,8 | 21602,2 \pm 2382,5 | 22732,2 \pm 1489,7 | 24033,3 \pm 1670,1 | 23083,3 \pm 442,1 | 23067,8 \pm 854,0 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 10994,9 \pm 1228,0 | 15231,1 \pm 2743,1 | 14984,4 \pm 2835,5 | 14901,1 \pm 3180,4 | 17957,8 \pm 3634,7 | 17317,8 \pm 1475,5 | 17530,0 \pm 1920,4 | 17144,4 \pm 2118,6 | 18466,7 \pm 5916,6 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 19963,3 \pm 5941,0 | 22615,6 \pm 4348,9 | 26696,7 \pm 3391,8 | 36340,0 \pm 1724,4 | 43333,3 \pm 3876,4 | 45096,7 \pm 7897,1 | 49404,4 \pm 6364,4 | 47685,6 \pm 3885,6 | 50630,0 \pm 4277,3 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 13924,7 \pm 1909,7 | 15897,8 \pm 2815,1 | 16534,4 \pm 4183,8 | 19095,6 \pm 4119,2 | 20533,3 \pm 1294,7 | 19826,7 \pm 2076,4 | 21426,7 \pm 2238,8 | 21690,0 \pm 3177,2 | 23586,7 \pm 7168,4 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 17665,6 \pm 4205,7 | 20333,3 \pm 3392,4 | 22558,9 \pm 2369,4 | 25840,0 \pm 3531,5 | 30565,6 \pm 3942,5 | 30776,7 \pm 6682,2 | 33031,1 \pm 5015,8 | 32813,3 \pm 2905,8 | 34868,9 \pm 4032,8 |
| Misto | 12866,7 \pm 2204,9 | 15290,0 \pm 1068,2 | 15962,2 \pm 3228,6 | 14720,8 \pm 3822,3 | 16284,4 \pm 3677,8 | 17023,3 \pm 2261,9 | 19231,1 \pm 1400,6 | 21292,2 \pm 1619,7 | 21611,1 \pm 3738,5 |

APÊNDICE II.18

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) com inserção de CO_2 atmosférico, sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA + CO_2 atm | | | | | | | | |
|------------------------------------|---|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 85 \pm 14,1 | 118,8 \pm 63,7 | 119,2 \pm 41,6 | 211,6 \pm 168,8 | 334,2 \pm 322,3 | 517,6 \pm 523,1 | 824,6 \pm 749,8 | 1122,7 \pm 862,4 | 1915,2 \pm 1224,0 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 119,5 \pm 43,5 | 163,9 \pm 59,3 | 410,8 \pm 266,0 | 1388,6 \pm 1245,0 | 3406,5 \pm 2757,3 | 5425,8 \pm 3144,4 | 10013,2 \pm 4498,7 | 16588,9 \pm 3372,3 | 22760,0 \pm 2865,4 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 123,8 \pm 53,7 | 148,8 \pm 64,7 | 232,3 \pm 120,6 | 1058,9 \pm 1281,2 | 1399,8 \pm 1317,2 | 1995,8 \pm 1563,3 | 3445,7 \pm 2000,9 | 5352,0 \pm 2273,2 | 9349,0 \pm 2656,8 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 122,3 \pm 63,3 | 164,2 \pm 73,1 | 500,2 \pm 285,8 | 2166,3 \pm 1220,8 | 6423,4 \pm 4543,4 | 10392,4 \pm 7133,6 | 15740,1 \pm 7882,5 | 21116,7 \pm 3987,3 | 29533,3 \pm 6550,6 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 130,4 \pm 62,1 | 135,4 \pm 52,7 | 199,0 \pm 108,9 | 574,0 \pm 575,2 | 1237,3 \pm 1009,2 | 1759,5 \pm 1086,8 | 3349,7 \pm 1590,7 | 5941,6 \pm 2692,2 | 10769,0 \pm 2498,0 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 137,5 \pm 71,9 | 179,5 \pm 67,4 | 420,8 \pm 296,6 | 1822,2 \pm 1815,6 | 3948,8 \pm 2884,9 | 6878,6 \pm 2690,7 | 14331,1 \pm 478,7 | 21946,1 \pm 6891,0 | 29350,0 \pm 6380,7 |
| Misto | 121,9 \pm 62,2 | 125,7 \pm 46,0 | 196,6 \pm 12,3 | 847,5 \pm 537,3 | 2199,8 \pm 311,1 | 3718,3 \pm 415,5 | 9709,1 \pm 4209,5 | 16795,6 \pm 1757,6 | 22084,4 \pm 2905,0 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 2766,1 \pm 1393,2 | 3715,2 \pm 1481,4 | 5010,4 \pm 1565,9 | 9608,6 \pm 3440,6 | 11018,3 \pm 4824,0 | 12453,6 \pm 2528,8 | 15100,0 \pm 922,7 | 14786,7 \pm 1470,1 | 17647,8 \pm 374,7 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 27840,0 \pm 3586,1 | 29678,9 \pm 4344,9 | 31401,1 \pm 8056,4 | 32291,1 \pm 11646,5 | 33246,7 \pm 10314,7 | 32016,7 \pm 8515,5 | 34282,2 \pm 11108,2 | 34833,3 \pm 11497,6 | 33051,1 \pm 8840,3 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 13827,8 \pm 765,9 | 17210,0 \pm 1127,5 | 19095,6 \pm 2340,9 | 20063,3 \pm 6197,1 | 26403,3 \pm 1194,5 | 27391,1 \pm 2071,9 | 33086,7 \pm 4369,8 | 34747,8 \pm 2973,7 | 35881,1 \pm 3740,9 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 34822,2 \pm 8386,0 | 39697,8 \pm 6205,4 | 43905,6 \pm 8909,9 | 64237,8 \pm 12667,0 | 65646,7 \pm 14673,1 | 70852,2 \pm 11097,4 | 74134,4 \pm 11627,1 | 73582,2 \pm 7006,4 | 73675,6 \pm 21374,2 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 12885,6 \pm 1745,2 | 17085,6 \pm 1599,7 | 19485,6 \pm 2368,7 | 25372,2 \pm 3290,6 | 28201,1 \pm 9152,1 | 28020,0 \pm 8954,1 | 29502,2 \pm 6238,9 | 30293,3 \pm 9134,9 | 33547,8 \pm 8254,5 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 34081,1 \pm 8448,4 | 38986,7 \pm 9558,9 | 43512,2 \pm 12222,7 | 50234,4 \pm 6920,0 | 50561,1 \pm 4045,5 | 48101,1 \pm 3606,0 | 52496,7 \pm 2055,3 | 45791,1 \pm 3237,7 | 53554,4 \pm 10279,5 |
| Misto | 25957,8 \pm 6539,1 | 27868,9 \pm 6595,8 | 31708,9 \pm 5219,3 | 37057,8 \pm 5631,0 | 38274,4 \pm 5144,9 | 36518,9 \pm 1094,6 | 37204,4 \pm 1045,6 | 33368,9 \pm 7895,7 | 33140,0 \pm 11245,5 |

APÊNDICE II.19

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) com adição de 0,15% de carbonato de cálcio (CaCO_3), sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA + 0,15% CaCO_3 | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 85,1 \pm 12,5 | 91,3 \pm 8,5 | 119,9 \pm 12,9 | 167,2 \pm 30,4 | 403,2 \pm 136,4 | 655,7 \pm 197,1 | 1486,8 \pm 521,5 | 2697,7 \pm 603,8 | 4215,7 \pm 851,8 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 71,8 \pm 1,9 | 136,9 \pm 14,3 | 278,1 \pm 60,5 | 811,6 \pm 201,3 | 2780,7 \pm 479,0 | 5017,4 \pm 523,0 | 13450,0 \pm 960,8 | 15748,9 \pm 1669,6 | 16506,7 \pm 1215,2 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 60,7 \pm 3,9 | 115,7 \pm 7,0 | 229,0 \pm 21,1 | 643,7 \pm 75,6 | 2490,9 \pm 291,9 | 4356,1 \pm 463,2 | 11612,2 \pm 934,3 | 17446,7 \pm 1406,9 | 17412,2 \pm 1013,2 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 69,2 \pm 2,9 | 175,2 \pm 22,8 | 704,1 \pm 99,9 | 2267,1 \pm 275,3 | 9699,6 \pm 556,2 | 12732,2 \pm 1279,5 | 18564,4 \pm 2737,0 | 22218,9 \pm 2377,8 | 24652,2 \pm 1850,9 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 77,0 \pm 3,0 | 108,6 \pm 6,6 | 214,7 \pm 10,1 | 609,3 \pm 92,1 | 2603,3 \pm 133,5 | 4623,3 \pm 521,7 | 10820,0 \pm 578,9 | 12434,4 \pm 1185,1 | 12225,6 \pm 775,9 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 78,9 \pm 9,5 | 168,3 \pm 4,3 | 427,4 \pm 24,2 | 1392,0 \pm 38,3 | 5830,6 \pm 410,4 | 11855,6 \pm 1665,4 | 18770,0 \pm 1291,5 | 25254,4 \pm 1574,2 | 22635,6 \pm 1211,2 |
| Misto | 70,0 \pm 16,9 | 115,1 \pm 21,4 | 234,5 \pm 22,9 | 560,4 \pm 161,4 | 2527,7 \pm 784,5 | 4414,2 \pm 594,2 | 13435,6 \pm 631,2 | 18062,2 \pm 1279,2 | 17925,6 \pm 1108,4 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 4816,1 \pm 840,6 | 6779,6 \pm 1312,8 | 8844,4 \pm 565,1 | 14685,6 \pm 962,8 | 15882,2 \pm 1517,7 | 14866,7 \pm 2068,0 | 16597,8 \pm 2891,8 | 15883,3 \pm 2057,0 | 17584,4 \pm 1135,6 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 17061,1 \pm 1207,2 | 22417,8 \pm 1711,2 | 22862,2 \pm 1028,4 | 33007,8 \pm 385,2 | 34646,7 \pm 3158,6 | 33142,2 \pm 1907,9 | 32795,6 \pm 2290,1 | 32238,9 \pm 1367,3 | 39041,1 \pm 2799,5 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 16117,8 \pm 3580,7 | 20307,8 \pm 1619,3 | 19871,1 \pm 774,2 | 37017,8 \pm 1822,0 | 38253,3 \pm 1252,1 | 33586,7 \pm 1537,5 | 32537,8 \pm 1104,2 | 25952,2 \pm 689,2 | 21854,4 \pm 842,8 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 33431,1 \pm 1776,4 | 42368,9 \pm 3511,8 | 52034,4 \pm 3679,0 | 76002,2 \pm 8252,8 | 83307,8 \pm 2584,4 | 64308,9 \pm 2285,6 | 62382,2 \pm 1274,1 | 56511,1 \pm 1873,6 | 53460,0 \pm 4143,7 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 13275,6 \pm 478,7 | 15872,2 \pm 1230,6 | 18626,7 \pm 1653,1 | 34797,8 \pm 5963,4 | 31703,3 \pm 1523,7 | 31732,2 \pm 914,0 | 35551,1 \pm 2510,0 | 33565,6 \pm 1257,3 | 35826,7 \pm 1225,8 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 27646,7 \pm 960,3 | 33626,7 \pm 1822,0 | 36578,9 \pm 2169,4 | 47606,7 \pm 898,6 | 50971,1 \pm 2476,3 | 48230,0 \pm 1801,5 | 48253,3 \pm 1585,3 | 43780,0 \pm 1710,2 | 46661,1 \pm 4311,1 |
| Misto | 23308,9 \pm 1784,4 | 27453,3 \pm 2391,4 | 27393,3 \pm 1915,7 | 35066,7 \pm 2572,1 | 35572,2 \pm 2662,6 | 38023,3 \pm 4153,2 | 36027,8 \pm 2604,6 | 27857,8 \pm 1137,8 | 22250,0 \pm 3252,4 |

APÊNDICE II.20

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) com adição de 0,25% de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA + 0,25% NaHCO_3 | | | | | | | | |
|------------------------------------|--|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 116,8 \pm 12,4 | 118,6 \pm 12,6 | 148,5 \pm 12,1 | 267,1 \pm 28,8 | 412,9 \pm 97,2 | 637,9 \pm 148,1 | 1151,9 \pm 401,6 | 1700,8 \pm 324,2 | 3006,8 \pm 534,3 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 136,4 \pm 14,3 | 253,1 \pm 34,4 | 1420,7 \pm 221,5 | 5162,8 \pm 800,7 | 9215,3 \pm 1770,9 | 13504,4 \pm 2261,6 | 19672,2 \pm 2465,7 | 26753,3 \pm 1589,3 | 42491,1 \pm 946,5 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 121,3 \pm 12,8 | 186,8 \pm 20,0 | 1001,2 \pm 62,4 | 4025,1 \pm 109,2 | 7082,2 \pm 371,2 | 8989,7 \pm 665,1 | 10150,4 \pm 805,2 | 11757,8 \pm 757,3 | 16198,9 \pm 1674,5 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 142,1 \pm 24,1 | 261,3 \pm 36,1 | 2034,2 \pm 451,1 | 10833,9 \pm 4442,8 | 17197,8 \pm 5763,7 | 23801,1 \pm 7145,7 | 32761,1 \pm 6859,7 | 46083,3 \pm 5461,5 | 71860,0 \pm 10131,3 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 117,0 \pm 8,4 | 147,4 \pm 10,7 | 442,2 \pm 121,2 | 1968,1 \pm 683,6 | 4998,4 \pm 1681,9 | 7502,3 \pm 2718,0 | 11539,2 \pm 2648,9 | 16745,6 \pm 3613,0 | 25518,9 \pm 4290,5 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 138,4 \pm 20,3 | 260,7 \pm 50,6 | 1342,2 \pm 241,2 | 4607,2 \pm 634,1 | 8265,4 \pm 1361,7 | 11480,1 \pm 2302,9 | 13686,7 \pm 2027,0 | 16507,8 \pm 4538,7 | 23860,0 \pm 7260,4 |
| Misto | 118,3 \pm 11,7 | 120,0 \pm 4,7 | 323,5 \pm 13,4 | 1425,7 \pm 265,3 | 5106,4 \pm 549,2 | 9110,1 \pm 666,0 | 13978,9 \pm 1031,8 | 19125,6 \pm 2838,9 | 32314,4 \pm 985,8 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 3998,6 \pm 876,3 | 5066,6 \pm 730,6 | 8319,4 \pm 1530,3 | 14432,2 \pm 1200,2 | 17556,7 \pm 1731,6 | 18124,4 \pm 1530,4 | 18271,1 \pm 1380,1 | 19165,6 \pm 1477,8 | 26061,1 \pm 3733,2 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 46436,7 \pm 692,4 | 50515,6 \pm 2233,2 | 52740,0 \pm 1369,6 | 57723,3 \pm 3523,6 | 63161,1 \pm 3028,1 | 69617,8 \pm 517,9 | 68831,1 \pm 2518,6 | 69350,0 \pm 4103,5 | 75395,6 \pm 3516,4 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 16884,4 \pm 1473,3 | 18217,8 \pm 2115,6 | 19032,2 \pm 2040,4 | 22252,2 \pm 1960,6 | 22845,6 \pm 893,6 | 24241,1 \pm 1033,1 | 22995,6 \pm 1333,2 | 19744,4 \pm 1031,8 | 18608,9 \pm 1435,7 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 80966,7 \pm 7869,4 | 90450,0 \pm 7105,9 | 87233,3 \pm 8123,3 | 74786,7 \pm 9756,4 | 84866,7 \pm 10396,6 | 81732,2 \pm 19198,4 | 79032,2 \pm 6388,9 | 71991,1 \pm 3038,6 | 75624,4 \pm 5566,5 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 32728,9 \pm 3710,3 | 40140,0 \pm 2757,8 | 41852,2 \pm 2831,7 | 55876,7 \pm 2324,7 | 42394,4 \pm 2203,1 | 41780,0 \pm 4149,4 | 41057,8 \pm 3042,6 | 41040,0 \pm 1654,6 | 45508,9 \pm 3909,5 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 23427,8 \pm 6738,2 | 22807,8 \pm 6447,0 | 21927,8 \pm 5140,5 | 19618,9 \pm 4178,9 | 19668,4 \pm 4688,3 | 19684,4 \pm 4003,4 | 18807,8 \pm 4282,2 | 16640,0 \pm 3733,5 | 14406,7 \pm 1289,7 |
| Misto | 36523,3 \pm 743,6 | 41313,3 \pm 709,8 | 39833,3 \pm 1073,8 | 41047,8 \pm 1398,1 | 42291,1 \pm 1537,0 | 43985,6 \pm 2528,5 | 43028,9 \pm 2634,6 | 38996,7 \pm 1698,4 | 39292,2 \pm 1811,2 |

APÊNDICE II.21

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) com adição de 0,15% de carbonato de cálcio (CaCO_3) e inserção de CO_2 atmosférico, sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, onde $n=9$).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA + 0,15% CaCO_3 + CO_2 atm | | | | | | | | |
|-----------------------------|---|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 110,7 \pm 13,8 | 121,7 \pm 13,8 | 122,9 \pm 20,0 | 129,0 \pm 8,2 | 172,5 \pm 32,2 | 431,4 \pm 45,1 | 765,5 \pm 65,8 | 1256,3 \pm 207,5 | 1908,4 \pm 243,1 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 137,7 \pm 9,2 | 179,9 \pm 17,5 | 718,2 \pm 136,2 | 4188,7 \pm 271,3 | 10206,2 \pm 1290,4 | 12895,6 \pm 1883,1 | 17028,9 \pm 1176,7 | 19052,2 \pm 1581,0 | 21824,4 \pm 1834,2 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 114,3 \pm 23,6 | 159,4 \pm 43,1 | 292,3 \pm 68,6 | 881,4 \pm 90,0 | 2389,4 \pm 174,8 | 5194,7 \pm 392,2 | 8748,1 \pm 583,6 | 12470,0 \pm 717,5 | 15366,7 \pm 2028,3 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 100,3 \pm 13,8 | 248,9 \pm 57,4 | 1543,1 \pm 275,6 | 6542,4 \pm 841,6 | 19814,4 \pm 2602,9 | 29067,8 \pm 1210,0 | 37760,0 \pm 2225,8 | 50714,4 \pm 2001,3 | 55652,2 \pm 3193,3 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 113,9 \pm 16,0 | 142,3 \pm 15,7 | 308,7 \pm 32,0 | 1111,4 \pm 189,5 | 3252,4 \pm 501,3 | 6233,1 \pm 765,2 | 9340,7 \pm 1167,0 | 12382,2 \pm 849,7 | 13157,8 \pm 934,6 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 102,5 \pm 13,5 | 174,6 \pm 58,7 | 354,2 \pm 46,1 | 1894,0 \pm 307,4 | 5187,7 \pm 523,8 | 9900,9 \pm 1213,6 | 15886,7 \pm 1220,3 | 19463,3 \pm 1328,1 | 24057,8 \pm 1600,3 |
| Misto | 115,4 \pm 22,1 | 189,8 \pm 37,2 | 290,6 \pm 51,5 | 801,2 \pm 151,2 | 1879,1 \pm 238,4 | 4307,1 \pm 932,3 | 9955,7 \pm 1613,4 | 15583,3 \pm 2127,7 | 25211,1 \pm 2899,8 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 2443,6 \pm 246,8 | 3080,8 \pm 238,7 | 5591,4 \pm 441,6 | 11007,8 \pm 1302,6 | 12016,7 \pm 1502,2 | 13312,2 \pm 1640,9 | 14474,4 \pm 1061,5 | 16033,3 \pm 1811,1 | 18244,4 \pm 1911,9 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 23960,0 \pm 1658,1 | 25387,8 \pm 1353,9 | 26540,0 \pm 2504,6 | 33405,6 \pm 1492,1 | 35515,6 \pm 1155,3 | 37953,3 \pm 1084,2 | 40324,4 \pm 1618,0 | 41762,2 \pm 1559,6 | 43768,9 \pm 2281,1 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 17667,8 \pm 1362,2 | 20502,2 \pm 2104,5 | 24617,8 \pm 1769,0 | 36505,6 \pm 1105,0 | 37611,1 \pm 1433,4 | 38954,4 \pm 1783,5 | 39542,2 \pm 2868,8 | 41215,6 \pm 2484,9 | 46476,7 \pm 1372,8 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 68787,8 \pm 6512,0 | 75283,3 \pm 3414,4 | 85000,0 \pm 3117,1 | 110553,3 \pm 11462,5 | 110283,3 \pm 8642,6 | 103856,7 \pm 6140,4 | 101485,6 \pm 3862,4 | 100768,9 \pm 1763,2 | 102451,1 \pm 7108,6 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 14863,3 \pm 1199,9 | 16210,0 \pm 1337,5 | 19014,4 \pm 1480,8 | 28127,8 \pm 2432,0 | 32080,0 \pm 1679,6 | 35701,1 \pm 1646,7 | 38487,8 \pm 2358,5 | 40658,9 \pm 2266,2 | 48741,1 \pm 4848,5 |
| <i>Tetradesmus</i> sp. L09 | 27376,7 \pm 2092,6 | 29466,7 \pm 2868,9 | 31936,7 \pm 2335,4 | 41717,8 \pm 5056,7 | 46962,2 \pm 4280,3 | 51384,4 \pm 1105,5 | 52975,6 \pm 1182,5 | 52818,9 \pm 1895,1 | 51924,4 \pm 1694,4 |
| Misto | 26126,7 \pm 2326,5 | 28834,4 \pm 1597,8 | 31591,1 \pm 1587,4 | 42684,4 \pm 2401,7 | 43923,3 \pm 2339,6 | 45253,3 \pm 2373,6 | 47326,7 \pm 3037,6 | 47726,7 \pm 1551,7 | 50148,9 \pm 1314,0 |

APÊNDICE II.22

Resultados dos teores de **clorofila-a *in vivo*** ($\mu\text{g/L}$), no cultivo de microalgas em efluente de UASB autoclavado (EFA) com adição de 0,25% de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e inserção de CO_2 atmosférico, sob condições de laboratório (média \pm desvio padrão, n=9).

| Inóculo | Clorofila-a <i>in vivo</i> ($\mu\text{g/L}$) – Cultivo em EFA + 0,25% NaHCO_3 + CO_2 atm | | | | | | | | |
|-----------------------------|--|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | ----- dias de cultivo ----- | | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 92,5 \pm 8,8 | 107,9 \pm 12,2 | 110,8 \pm 6,9 | 141,9 \pm 35,8 | 219,1 \pm 38,9 | 342,3 \pm 48,6 | 552,7 \pm 70,3 | 783,0 \pm 72,8 | 890,8 \pm 82,8 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 112,3 \pm 12,1 | 146,9 \pm 14,2 | 337,3 \pm 27,4 | 1619,1 \pm 295,7 | 3264,2 \pm 396,3 | 6299,0 \pm 557,1 | 12015,6 \pm 1577,0 | 16350,0 \pm 1374,3 | 18496,7 \pm 1815,7 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 104,2 \pm 10,1 | 149,9 \pm 13,7 | 411,1 \pm 84,8 | 1182,9 \pm 243,3 | 2521,6 \pm 179,1 | 4193,6 \pm 315,4 | 7686,0 \pm 636,2 | 10979,8 \pm 889,9 | 12907,8 \pm 1474,8 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 100,3 \pm 13,5 | 211,2 \pm 25,6 | 1335,2 \pm 176,4 | 5566,4 \pm 626,7 | 14951,1 \pm 2549,2 | 22347,8 \pm 1344,7 | 34222,2 \pm 3209,5 | 46754,4 \pm 4841,8 | 55224,4 \pm 2367,9 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 96,8 \pm 15,4 | 124,6 \pm 21,4 | 236,3 \pm 49,5 | 614,3 \pm 109,8 | 1046,1 \pm 108,0 | 1891,9 \pm 409,7 | 2792,1 \pm 316,4 | 3404,3 \pm 217,4 | 5756,4 \pm 812,2 |
| <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 103,3 \pm 11,2 | 151,7 \pm 35,2 | 455,5 \pm 57,0 | 1745,8 \pm 151,9 | 4255,4 \pm 421,7 | 8371,9 \pm 1054,1 | 11800,0 \pm 1350,8 | 21822,2 \pm 2857,7 | 23880,0 \pm 792,2 |
| Misto | 99,4 \pm 10,2 | 105,6 \pm 8,7 | 132,3 \pm 24,6 | 311,1 \pm 74,9 | 645,6 \pm 123,7 | 1640,6 \pm 490,0 | 4473,2 \pm 920,5 | 7439,7 \pm 1008,1 | 9133,9 \pm 793,0 |
| Inóculo | (Continuação) | | | | | | | | |
| | 9 | 10 | 11 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 21 |
| <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 1500,0 \pm 430,6 | 2085,0 \pm 111,7 | 3918,8 \pm 323,7 | 9216,8 \pm 928,5 | 10916,8 \pm 1302,8 | 14748,9 \pm 2213,5 | 15970,0 \pm 1538,2 | 19304,4 \pm 1356,8 | 22543,3 \pm 2279,8 |
| <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 22122,2 \pm 1200,0 | 24364,4 \pm 1326,7 | 30230,0 \pm 1497,1 | 46586,7 \pm 1145,8 | 49993,3 \pm 970,6 | 52672,2 \pm 1338,3 | 52295,6 \pm 2873,7 | 57947,8 \pm 1225,5 | 70688,9 \pm 7762,1 |
| <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 15006,7 \pm 940,6 | 17125,6 \pm 1260,2 | 18762,2 \pm 1733,3 | 22863,3 \pm 3820,0 | 24504,4 \pm 3463,3 | 26732,2 \pm 2087,4 | 27644,4 \pm 1727,6 | 29151,1 \pm 1214,6 | 33670,0 \pm 1988,9 |
| <i>Chlorella</i> sp. L06 | 71246,7 \pm 2871,2 | 80432,2 \pm 2425,9 | 85290,0 \pm 3361,1 | 98834,4 \pm 7903,5 | 104874,4 \pm 4408,0 | 111886,7 \pm 6468,9 | 113448,9 \pm 4043,8 | 114414,4 \pm 3450,6 | 119963,3 \pm 5766,8 |
| <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 9632,1 \pm 583,7 | 13513,3 \pm 2031,1 | 18910,0 \pm 1800,5 | 28322,2 \pm 1954,8 | 33265,6 \pm 2461,4 | 41552,2 \pm 1318,4 | 41795,6 \pm 1875,0 | 44034,4 \pm 1199,3 | 59638,9 \pm 2622,1 |
| <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 24722,2 \pm 690,6 | 26356,7 \pm 1646,5 | 27264,4 \pm 3738,0 | 26104,4 \pm 3170,1 | 25617,8 \pm 2360,4 | 24444,4 \pm 2997,9 | 21287,8 \pm 1932,0 | 19335,6 \pm 626,1 | 19208,9 \pm 1665,3 |
| Misto | 11131,1 \pm 714,6 | 15897,8 \pm 1319,0 | 20867,8 \pm 1422,9 | 29391,1 \pm 3445,7 | 29368,9 \pm 3993,2 | 28846,7 \pm 5949,8 | 30356,7 \pm 5503,2 | 30748,9 \pm 5401,2 | 35510,0 \pm 7566,9 |

APÊNDICE II.23

Resultados de pH para o cultivo de seis isolados de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes fontes de CO₂.

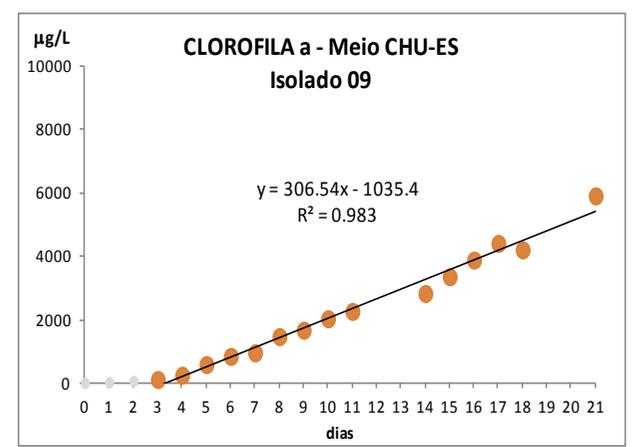
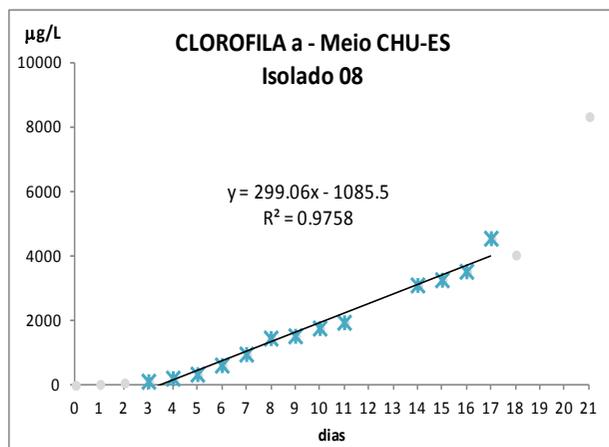
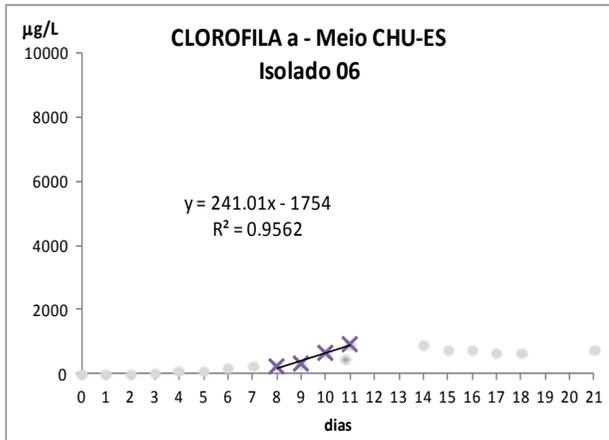
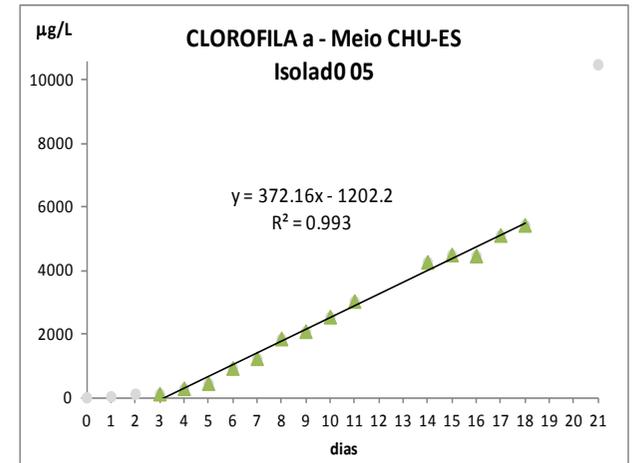
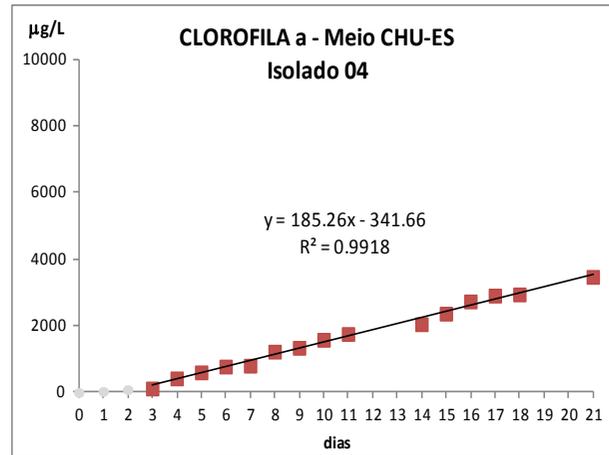
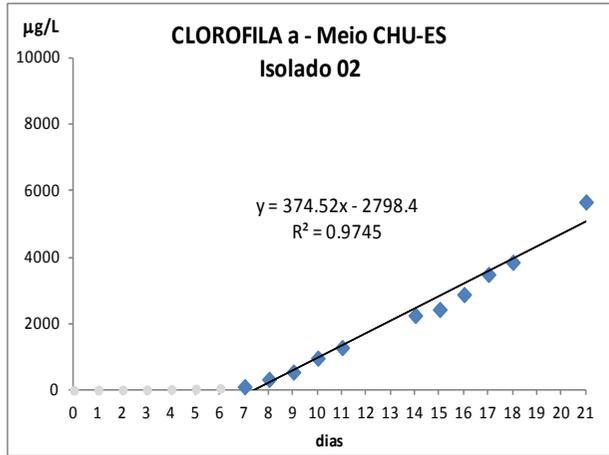
| Meio de cultivo | Microalga | dias de cultivo | | | | | |
|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----|-----|------|------|------|
| | | 0 | 3 | 5 | 10 | 15 | 21 |
| CHU-ES | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 7,1 | 7,5 | 7,3 | 7,8 | 8,2 | 8,3 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 7,1 | 7,4 | 7,6 | 7,6 | 7,4 | 7,2 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 7,1 | 7,4 | 7,8 | 8,0 | 7,9 | 7,6 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 7,1 | 7,3 | 7,5 | 7,6 | 7,3 | 7,1 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 7,1 | 7,3 | 7,5 | 7,6 | 7,5 | 7,3 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 7,1 | 7,4 | 7,6 | 7,7 | 7,4 | 7,2 |
| | Cultivo Misto | 7,1 | 7,3 | 7,8 | 7,8 | 7,6 | 7,6 |
| EFA | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 9,1 | 8,8 | 8,8 | 9,6 | 9,8 | 10,0 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 9,0 | 9,0 | 9,3 | 10,3 | 10,0 | 10,1 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 9,0 | 8,8 | 8,9 | 10,3 | 9,9 | 10,1 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,9 | 9,0 | 9,2 | 10,2 | 10,0 | 10,3 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,9 | 9,0 | 9,2 | 10,5 | 10,0 | 10,3 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 9,0 | 9,1 | 9,3 | 10,5 | 10,2 | 10,3 |
| | Cultivo Misto | 8,9 | 8,6 | 8,8 | 10,2 | 9,7 | 10,2 |
| EFA-CO2 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 8,9 | 8,5 | 8,5 | 9,2 | 9,1 | 9,9 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 9,0 | 8,8 | 9,0 | 10,4 | 9,8 | 10,1 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 8,9 | 8,6 | 8,7 | 9,9 | 9,8 | 10,2 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,9 | 8,7 | 9,2 | 10,2 | 9,7 | 10,1 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,9 | 8,7 | 8,7 | 10,2 | 9,8 | 10,0 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 8,8 | 8,7 | 8,9 | 10,6 | 10,0 | 10,2 |
| | Cultivo Misto | 8,9 | 8,4 | 8,7 | 10,3 | 9,8 | 10,1 |
| CaCO3 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 8,7 | 8,5 | 8,5 | 9,8 | 9,4 | 9,2 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 8,7 | 8,6 | 9,2 | 10,0 | 9,5 | 9,4 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 8,7 | 8,5 | 8,9 | 10,0 | 9,5 | 9,4 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,7 | 8,8 | 9,7 | 9,9 | 9,6 | 9,5 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,7 | 8,7 | 9,4 | 10,0 | 9,7 | 9,6 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 8,7 | 8,8 | 9,6 | 10,0 | 9,7 | 9,6 |
| | Cultivo Misto | 8,7 | 8,2 | 8,8 | 9,9 | 9,7 | 9,6 |
| NaHCO3 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 8,5 | 8,9 | 8,9 | 9,5 | 9,9 | 10,3 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 8,5 | 9,1 | 9,1 | 9,8 | 10,1 | 10,1 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 8,5 | 9,0 | 9,1 | 9,9 | 9,9 | 9,9 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,5 | 9,1 | 9,1 | 9,7 | 9,9 | 10,0 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,5 | 9,0 | 9,1 | 9,9 | 10,0 | 10,2 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 8,5 | 9,0 | 9,0 | 9,8 | 9,9 | 9,6 |
| | Cultivo Misto | 8,5 | 8,9 | 9,0 | 9,9 | 10,1 | 10,1 |
| CaCO3 + CO2 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 9,0 | 8,9 | 8,9 | 9,0 | 9,6 | 9,7 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 8,8 | 8,9 | 9,1 | 9,5 | 9,6 | 9,4 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 8,9 | 8,8 | 9,0 | 9,0 | 9,5 | 10,0 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,8 | 8,9 | 9,1 | 9,4 | 9,4 | 9,7 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,9 | 8,9 | 9,2 | 9,5 | 9,5 | 9,7 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 9,0 | 9,0 | 9,3 | 9,6 | 9,7 | 9,8 |
| | Cultivo Misto | 9,1 | 8,8 | 9,2 | 9,5 | 9,7 | 9,9 |
| NaHCO3+CO2 atm | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 8,6 | 9,1 | 9,1 | 9,4 | 9,7 | 9,7 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 8,6 | 9,1 | 9,2 | 9,6 | 9,9 | 9,9 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 8,6 | 9,0 | 9,3 | 9,6 | 9,7 | 10,0 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 8,6 | 9,1 | 9,4 | 9,7 | 9,8 | 10,1 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 8,6 | 9,0 | 9,3 | 9,6 | 9,8 | 10,0 |
| | <i>Tetrademus</i> sp. L09 | 8,6 | 9,1 | 9,5 | 9,7 | 9,8 | 9,7 |
| | Cultivo Misto | 8,6 | 8,9 | 9,1 | 9,4 | 9,6 | 10,0 |

APÊNDICE II.24

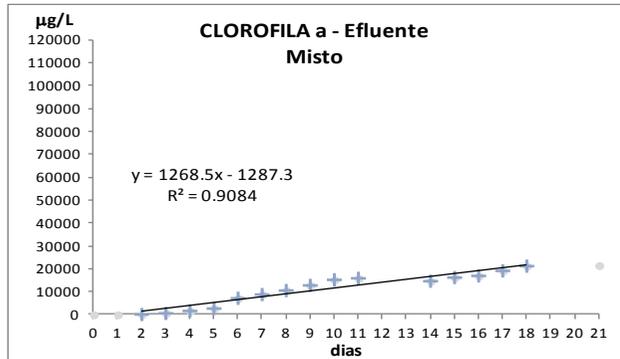
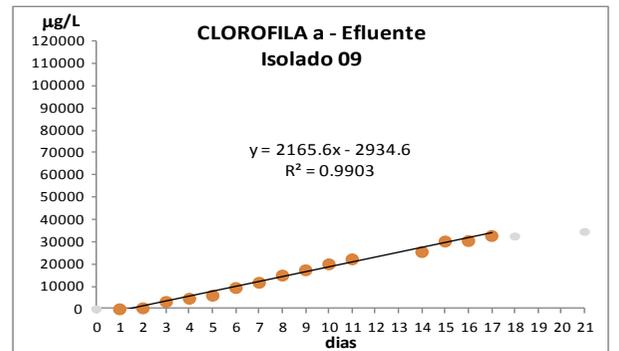
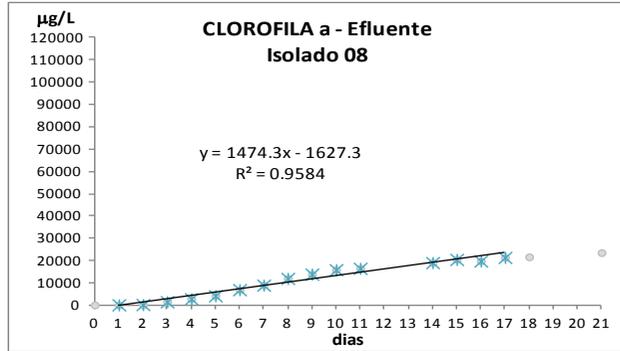
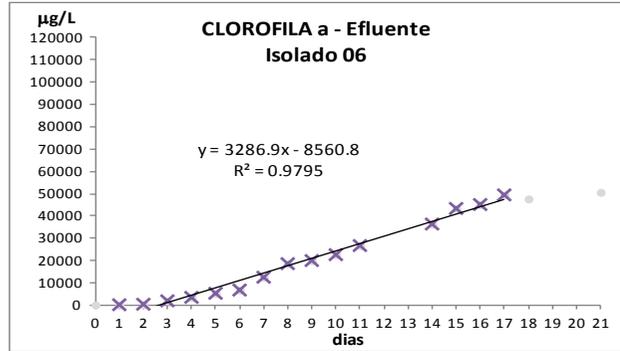
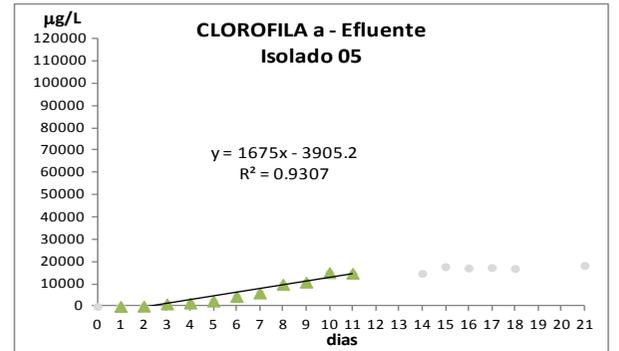
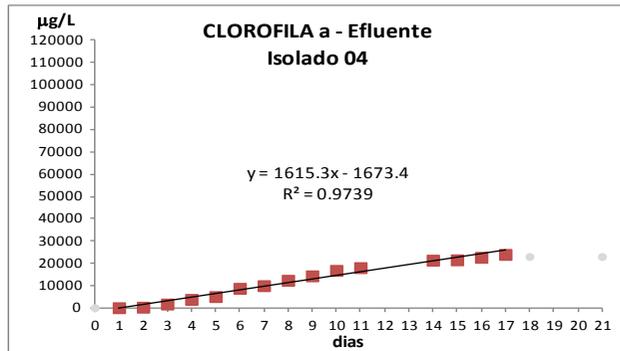
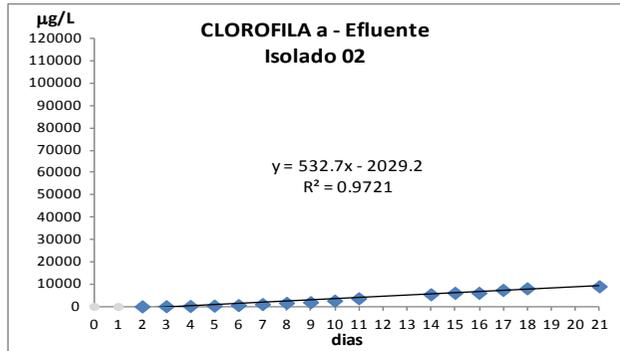
Resultados de **sólidos voláteis** (mg/L) para cultivo de seis isolados de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de diferentes fontes de CO₂

| Meio de cultivo | Microalga | dias de cultivo | | | | | |
|--------------------|-----------------------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 0 | 3 | 5 | 10 | 15 | 21 |
| CHU-ES | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 104 | 72 | 98 | 125 | 109 | 145 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 97 | 95 | 224 | 173 | 135 | 157 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 118 | 103 | 68 | 123 | 115 | 148 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 104 | 108 | 96 | 84 | 99 | 115 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 77 | 116 | 100 | 111 | 107 | 125 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 131 | 130 | 124 | 199 | 147 | 131 |
| | Cultivo Misto | 71 | 84 | 63 | 89 | 119 | 113 |
| EFA | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 87 | 147 | 119 | 132 | 193 | 279 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 95 | 155 | 155 | 225 | 251 | 327 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 121 | 145 | 157 | 227 | 229 | 303 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 84 | 163 | 163 | 203 | 228 | 344 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 90 | 190 | 174 | 249 | 234 | 339 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 94 | 168 | 176 | 223 | 262 | 349 |
| | Cultivo Misto | 77 | 142 | 160 | 175 | 205 | 305 |
| EFA-CO2 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 77 | 140 | 113 | 141 | 246 | 366 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 82 | 138 | 133 | 276 | 326 | 450 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 88 | 176 | 149 | 207 | 268 | 395 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 86 | 167 | 160 | 265 | 315 | 431 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 83 | 159 | 139 | 213 | 286 | 425 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 151 | 169 | 195 | 307 | 349 | 493 |
| | Cultivo Misto | 97 | 157 | 153 | 211 | 279 | 399 |
| CaCO3 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 85 | 79 | 109 | 203 | 299 | 425 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 74 | 97 | 153 | 267 | 359 | 519 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 68 | 85 | 123 | 239 | 341 | 465 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 72 | 96 | 146 | 237 | 355 | 532 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 70 | 90 | 137 | 225 | 317 | 457 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 65 | 114 | 198 | 283 | 384 | 513 |
| | Cultivo Misto | 63 | 67 | 98 | 192 | 273 | 459 |
| NaHCO3 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 233 | 237 | 241 | 339 | 416 | 689 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 220 | 295 | 319 | 434 | 627 | 716 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 233 | 258 | 291 | 293 | 445 | 570 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 285 | 277 | 325 | 369 | 507 | 699 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 305 | 217 | 306 | 367 | 525 | 726 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 245 | 300 | 360 | 403 | 531 | 615 |
| | Cultivo Misto | 365 | 206 | 290 | 359 | 540 | 749 |
| CaCO3 + CO2 | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 196 | 210 | 204 | 183 | 214 | 310 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 290 | 320 | 336 | 403 | 451 | 559 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 198 | 212 | 245 | 257 | 339 | 502 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 224 | 209 | 226 | 278 | 307 | 546 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 204 | 211 | 242 | 260 | 282 | 456 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 205 | 206 | 260 | 285 | 314 | 519 |
| | Cultivo Misto | 217 | 195 | 218 | 243 | 327 | 377 |
| NaHCO3+CO 2 atm | <i>Desmodesmus</i> sp. L02 | 261 | 268 | 291 | 321 | 500 | 511 |
| | <i>Chlorococcum</i> sp. L04 | 294 | 256 | 325 | 336 | 509 | 508 |
| | <i>Coccomyxa</i> sp. L05 | 288 | 318 | 326 | 334 | 469 | 576 |
| | <i>Chlorella</i> sp. L06 | 298 | 346 | 369 | 392 | 527 | 729 |
| | <i>Scenedesmus</i> sp. L08 | 345 | 353 | 365 | 376 | 598 | 645 |
| | <i>Tetradismus</i> sp. L09 | 257 | 361 | 365 | 373 | 592 | 547 |
| | Cultivo Misto | 213 | 252 | 256 | 250 | 343 | 427 |

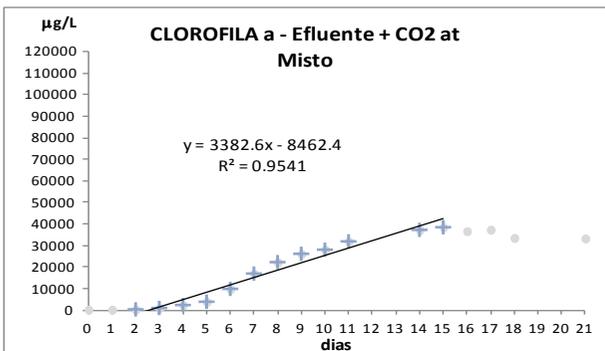
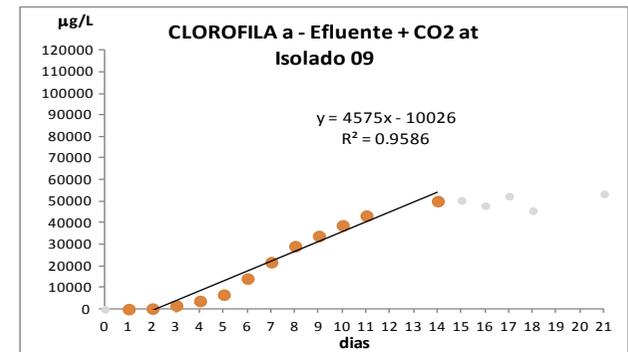
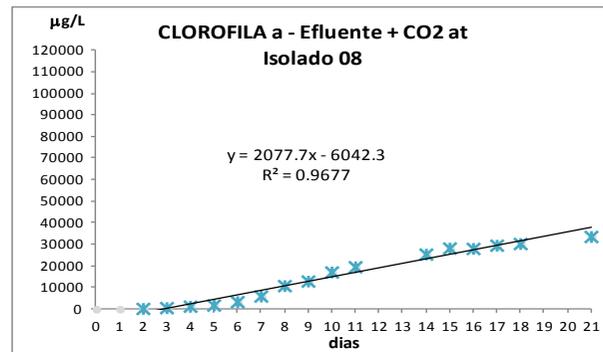
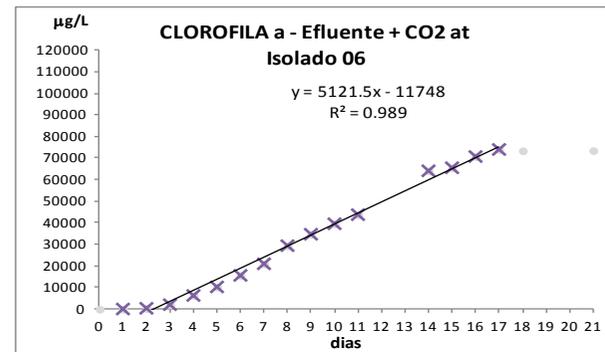
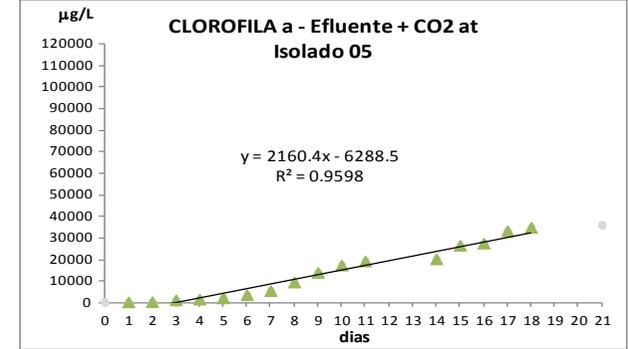
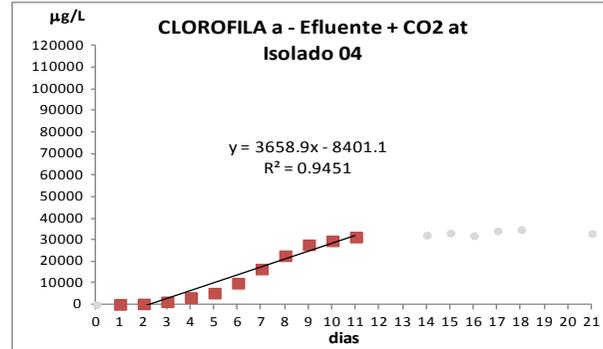
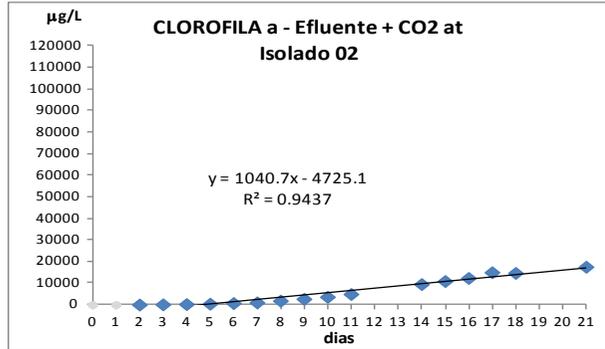
APÊNDICE II.25 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em meio CHU-ES, por isolado, com base em clorofila-a.



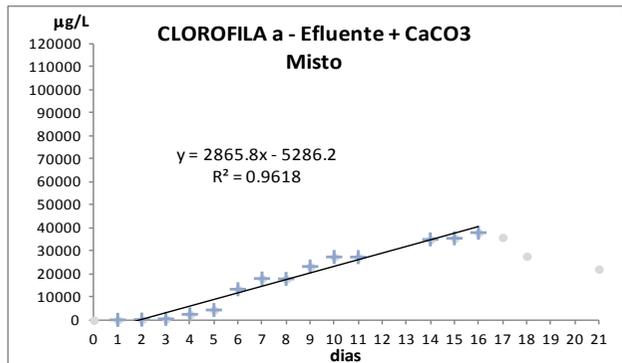
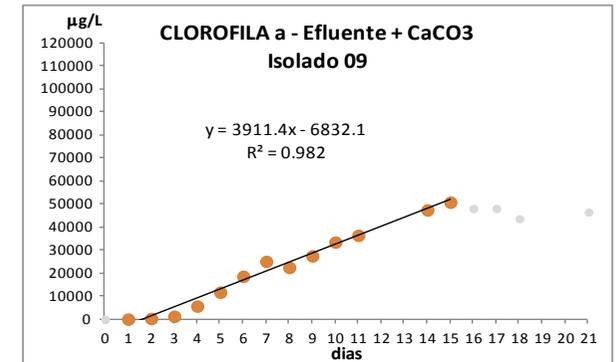
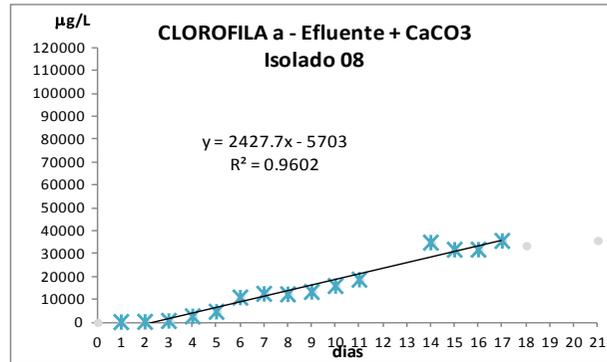
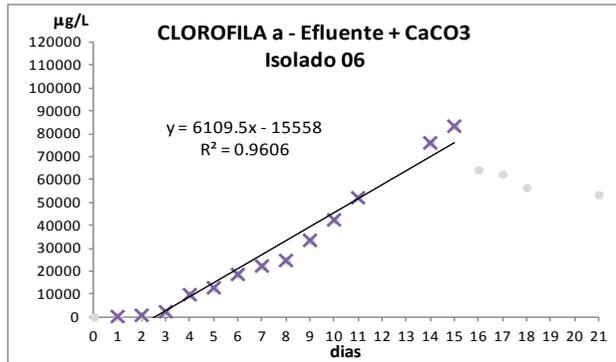
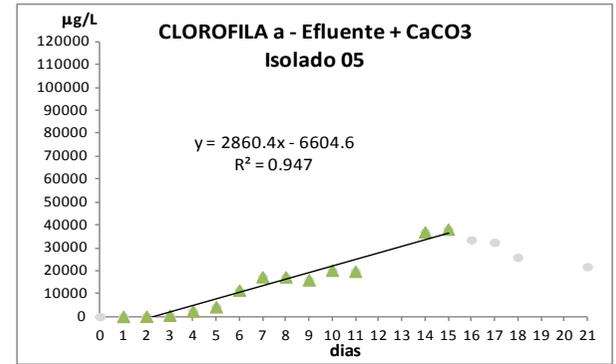
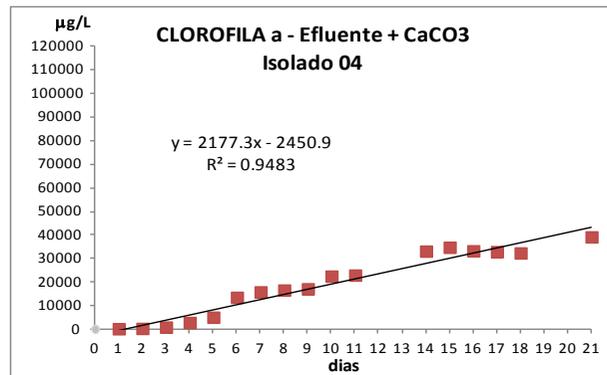
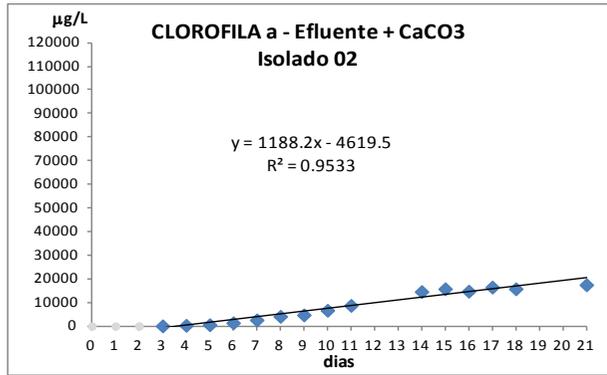
APÊNDICE II.26 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado, por isolado, com base em clorofila-a.



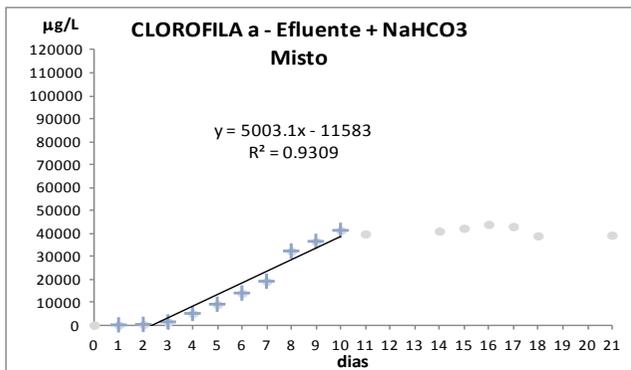
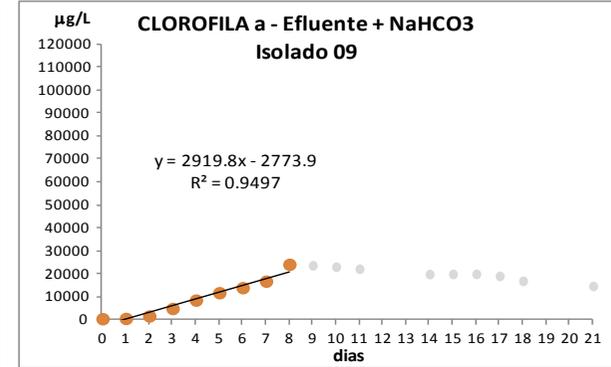
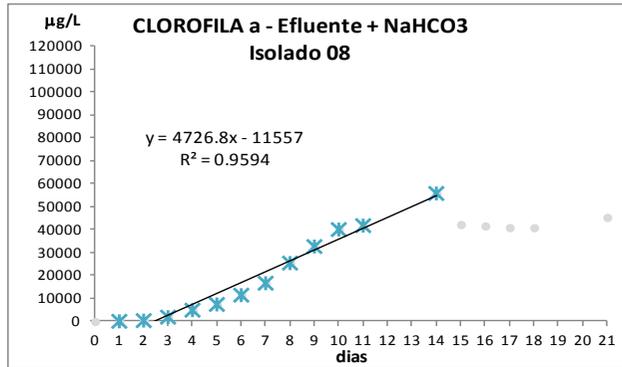
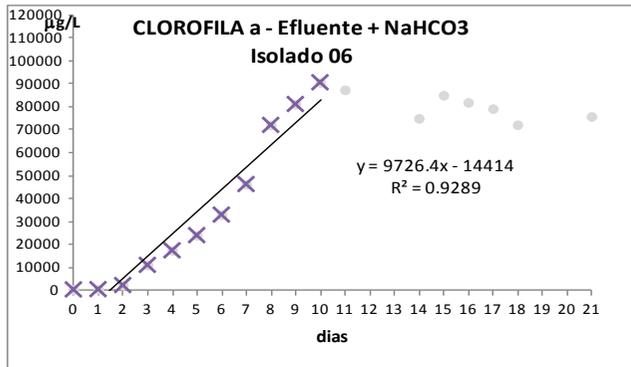
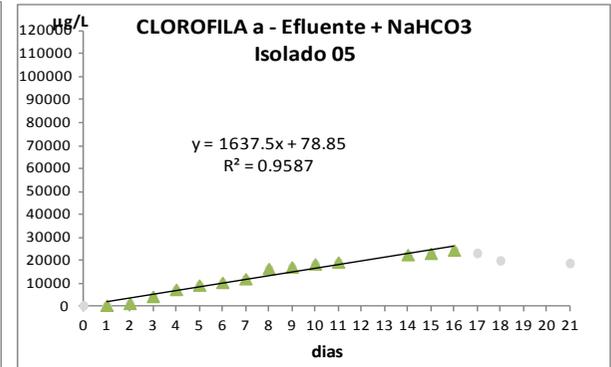
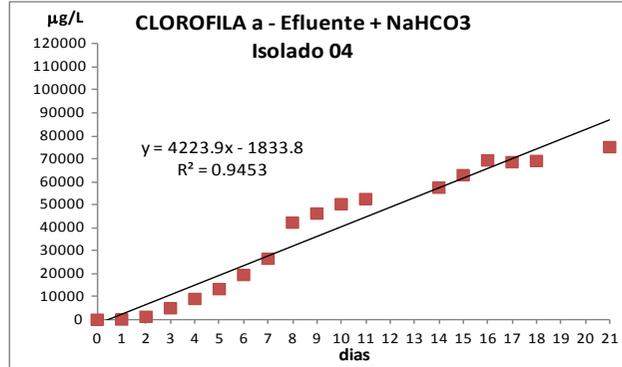
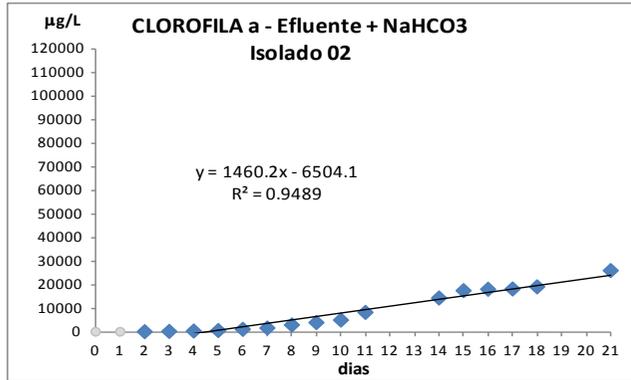
APÊNDICE II.27 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de CO₂ atmosférico, por isolado, com base em clorofila-a.



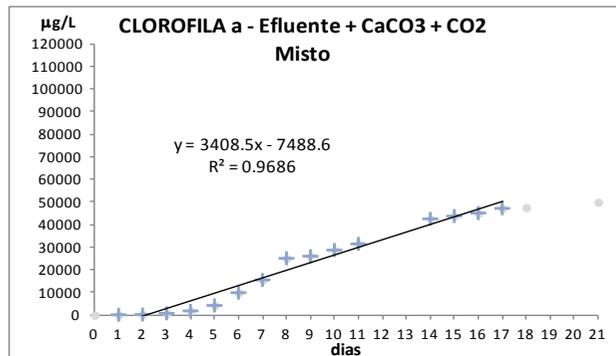
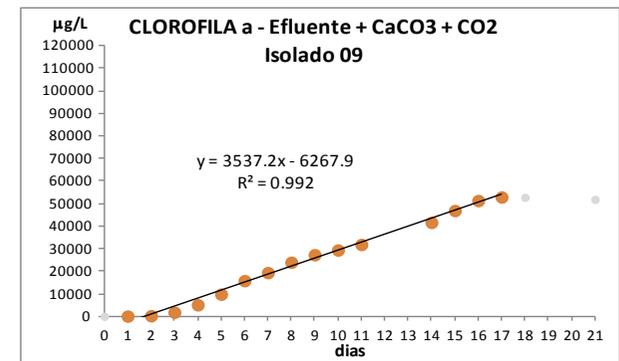
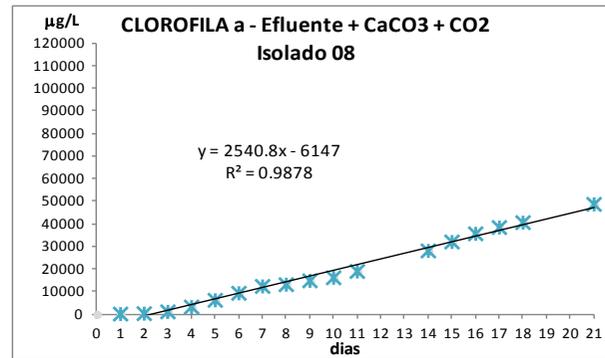
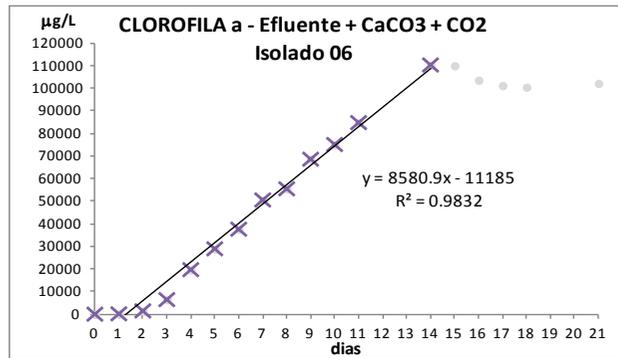
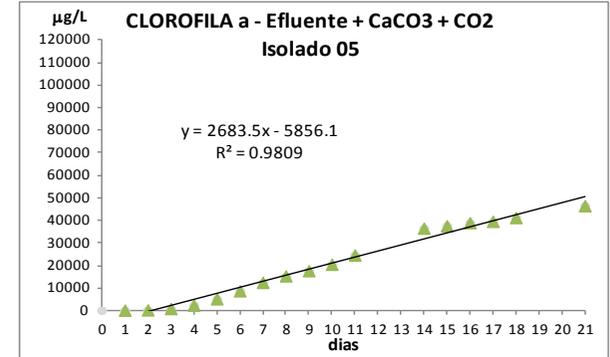
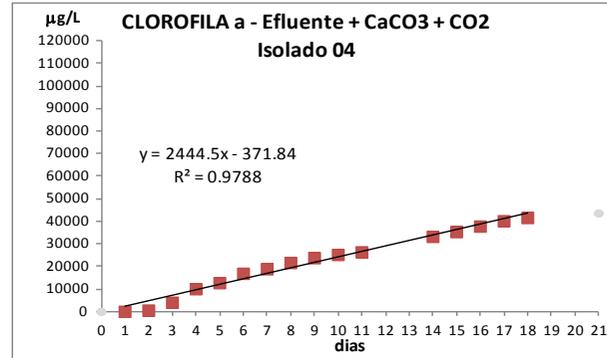
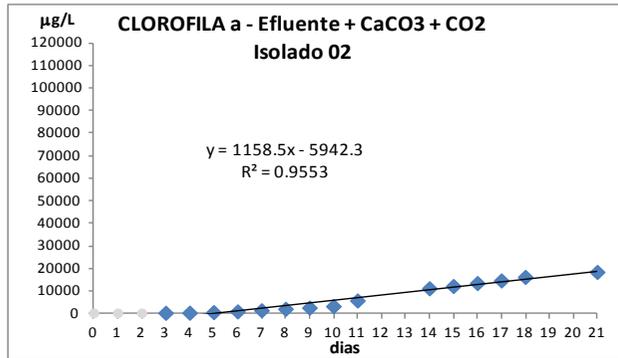
APÊNDICE II.28 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,15% de CaCO₃, por isolado, com base em clorofila-a.



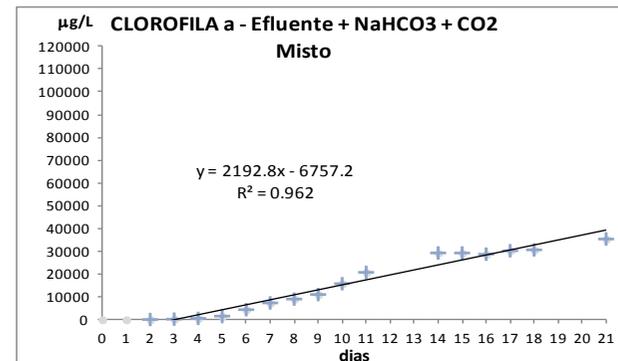
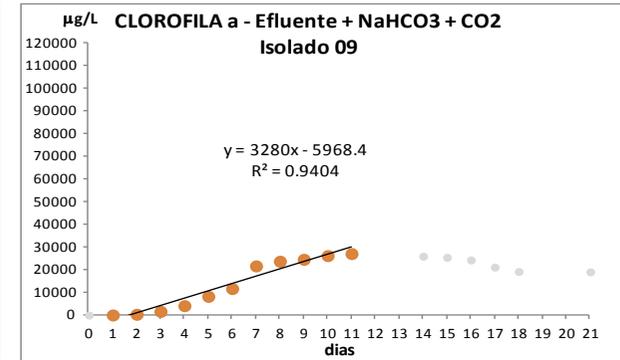
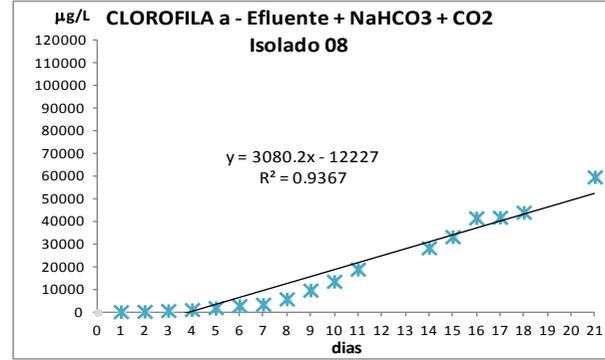
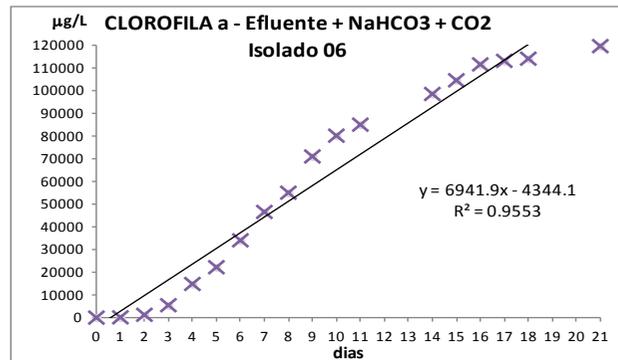
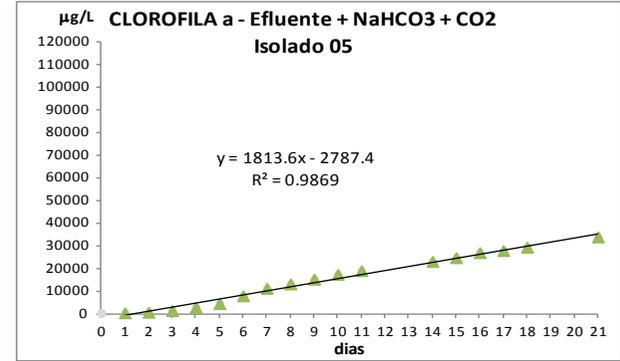
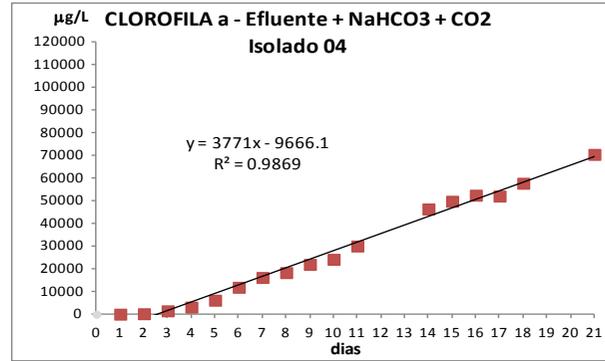
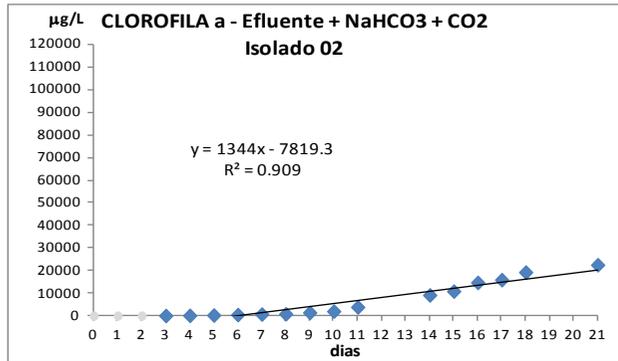
APÊNDICE II.29 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,25% de NaHCO₃, por isolado, com base em clorofila-a.



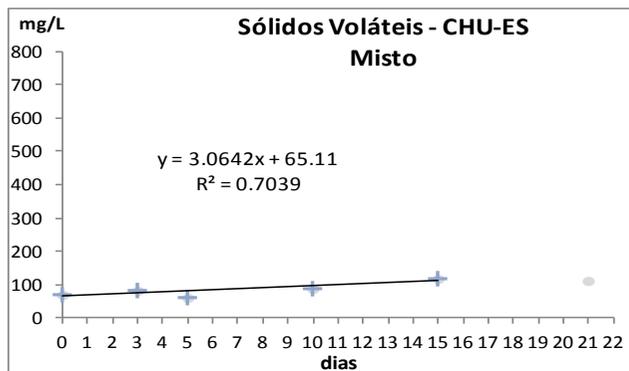
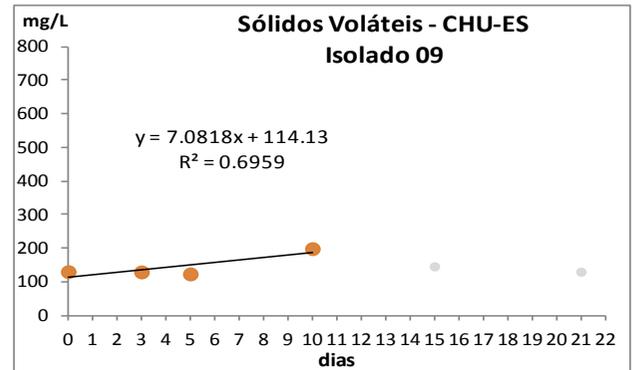
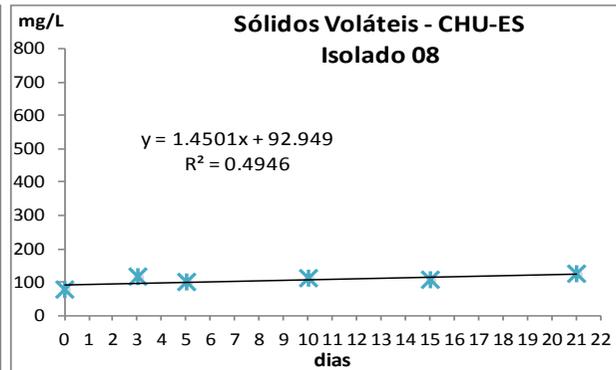
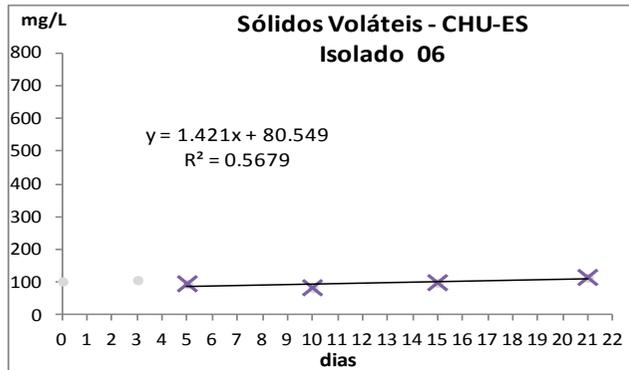
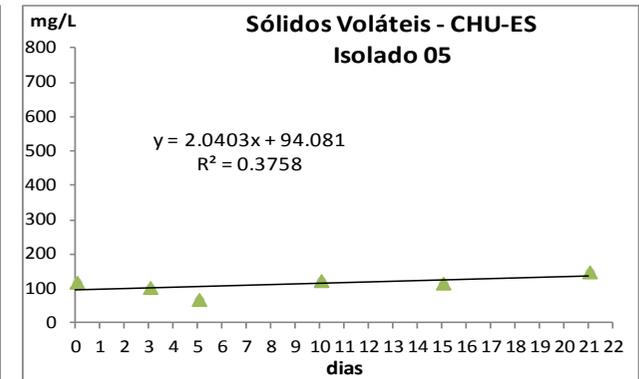
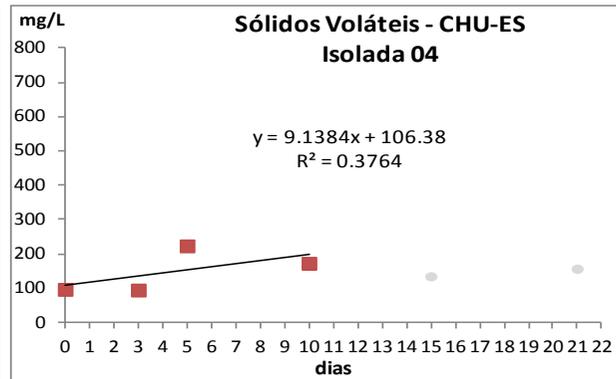
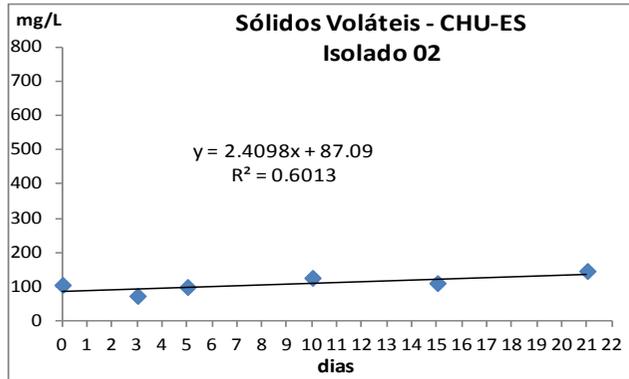
APÊNDICE II.30 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,15% de CaCO₃ e CO₂ atmosférico, por isolado, com base em clorofila-a.



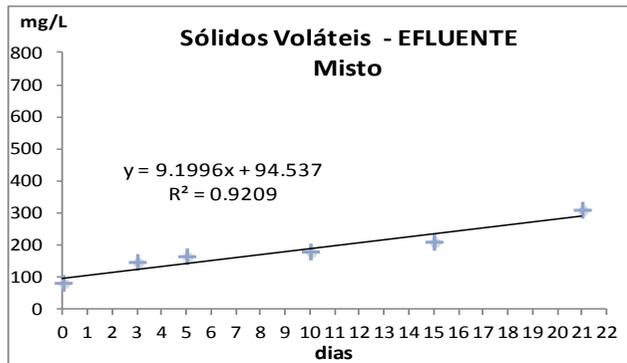
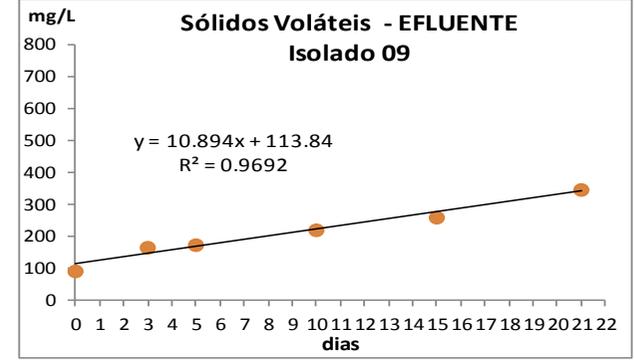
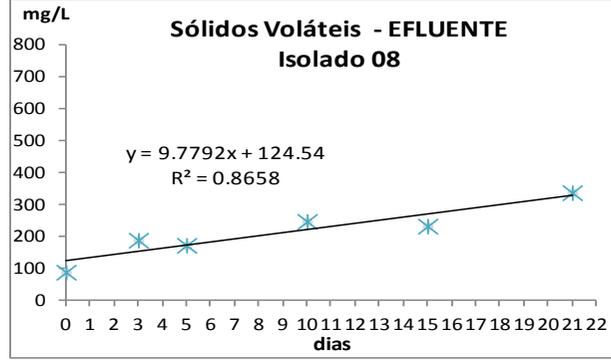
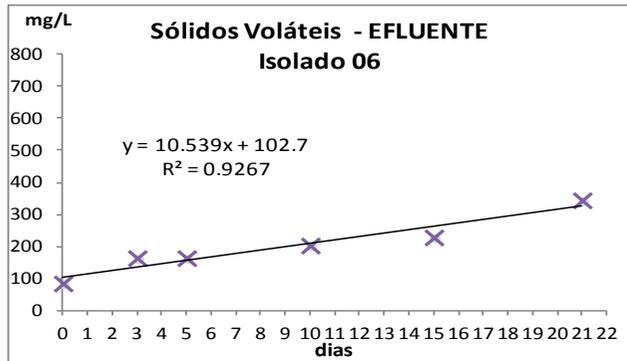
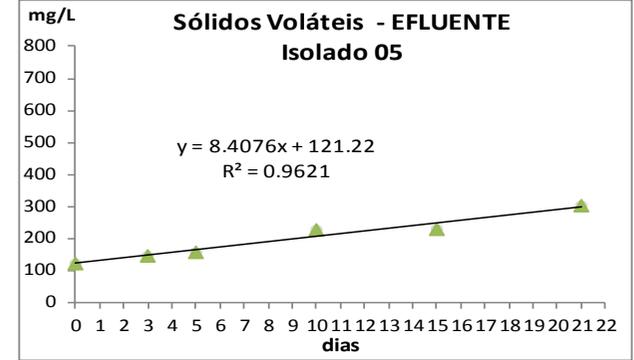
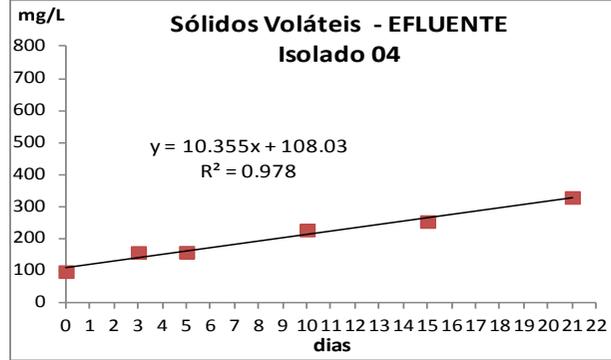
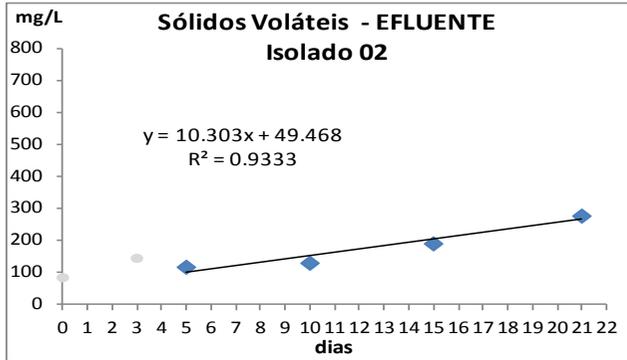
APÊNDICE II.31 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,25% de NaHCO₃ e CO₂ atmosférico, por isolado, com base em clorofila-a.



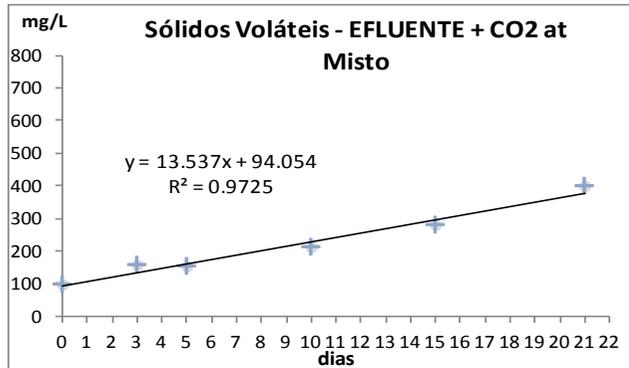
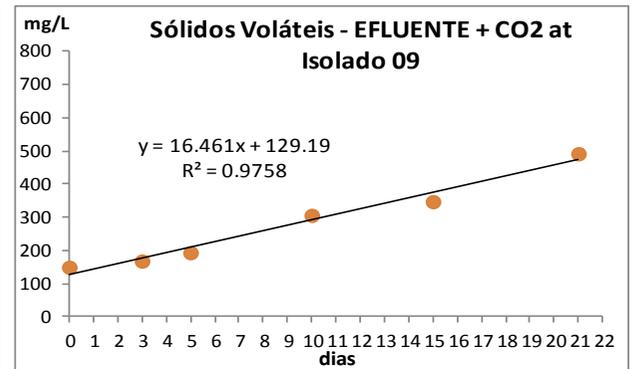
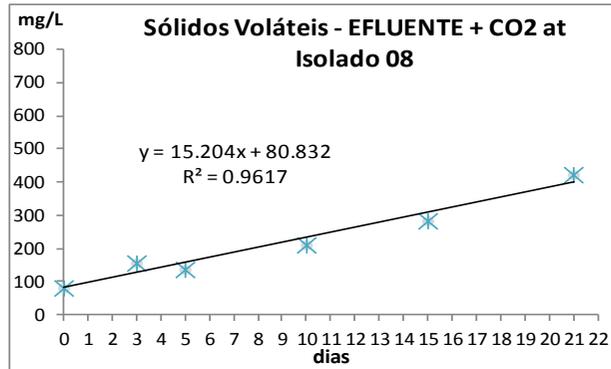
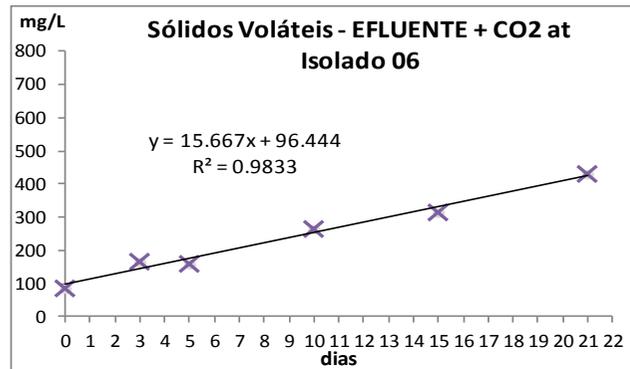
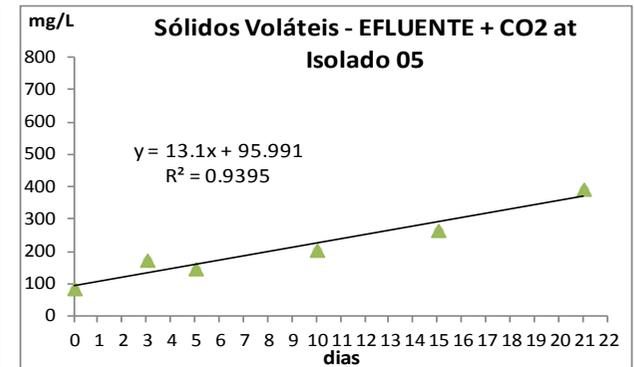
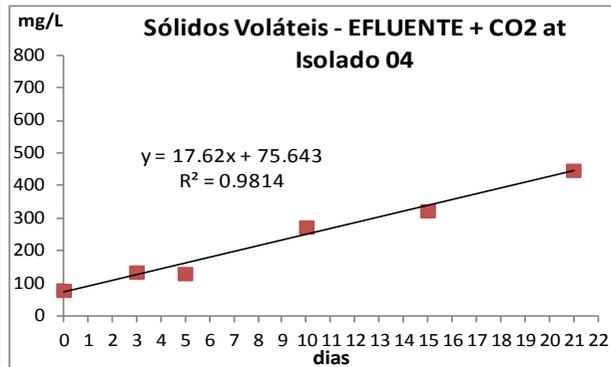
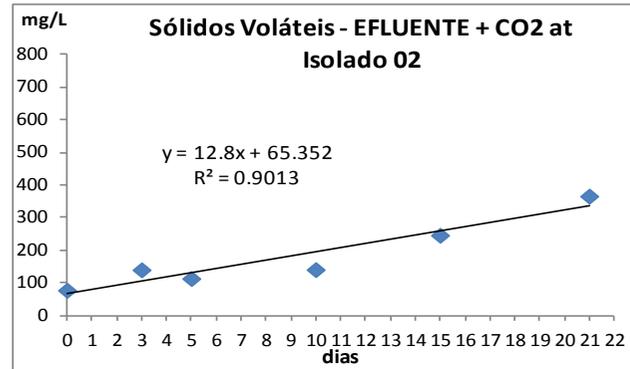
APÊNDICE II.32 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em meio CHU-ES, por isolado, com base em sólidos voláteis.



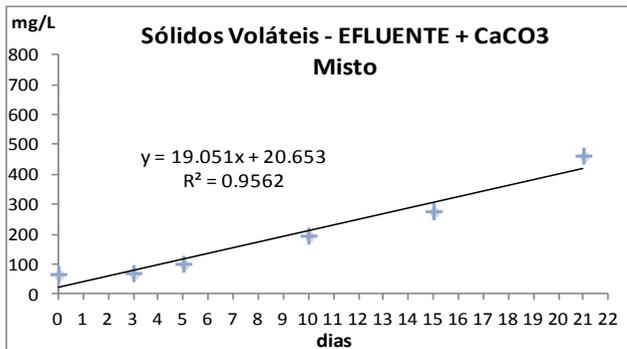
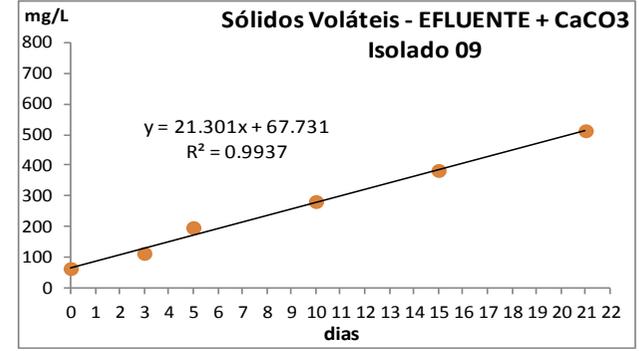
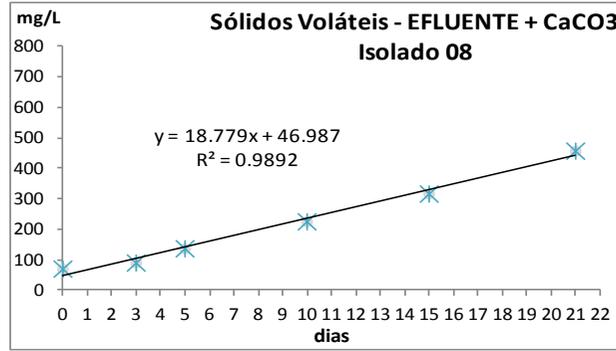
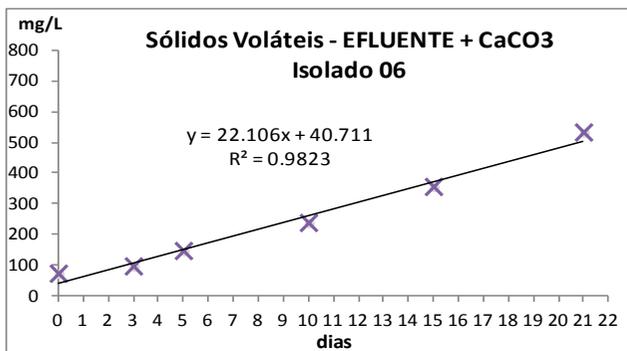
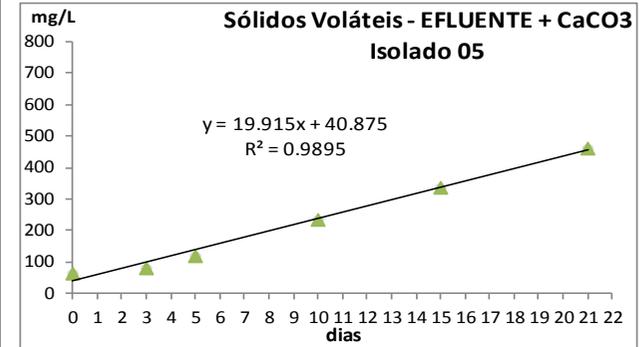
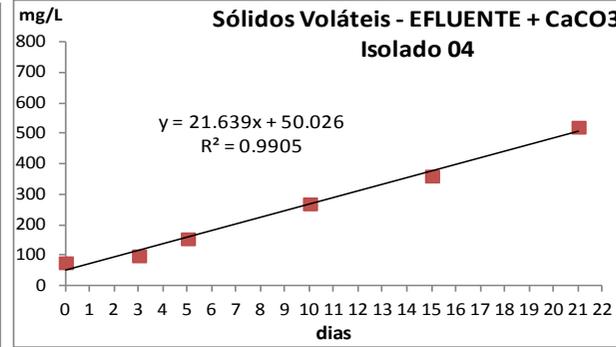
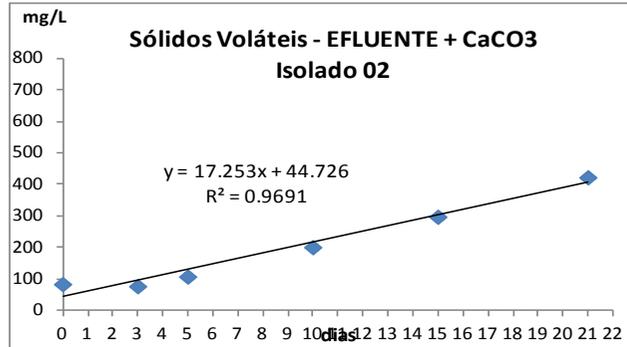
APÊNDICE II.33 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado, por isolado, com base em sólidos voláteis.



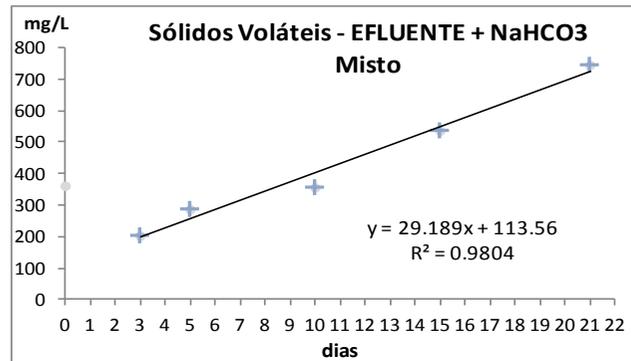
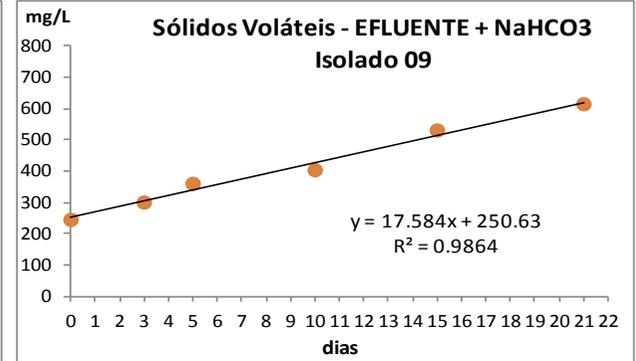
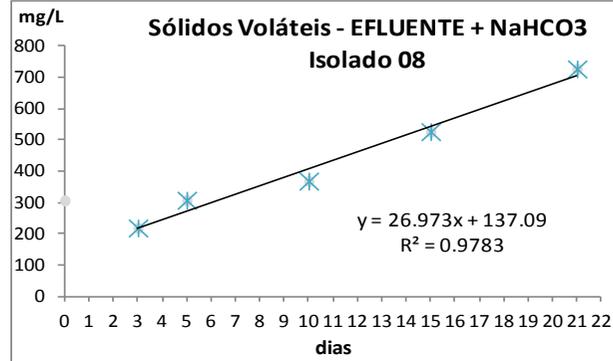
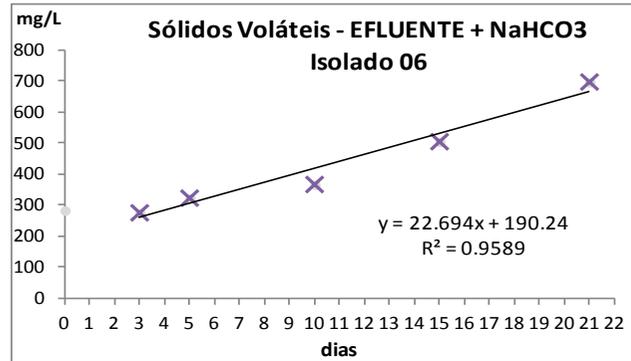
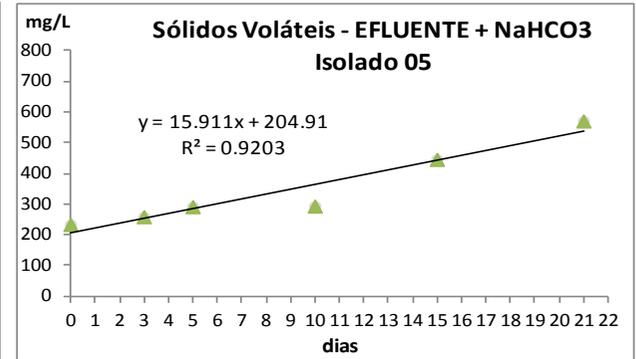
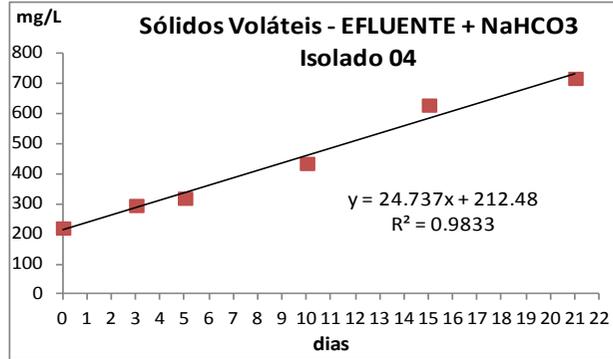
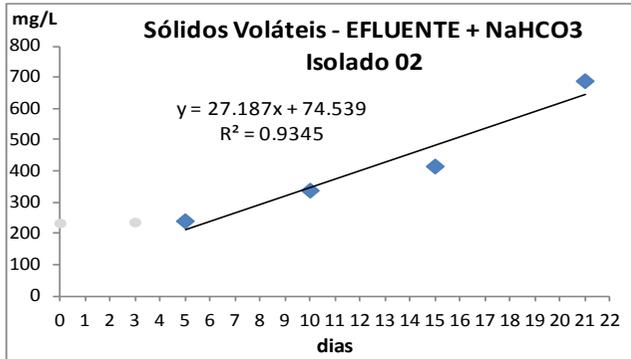
APÊNDICE II.34 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de CO₂ atmosférico, por isolado, com base em sólidos voláteis.



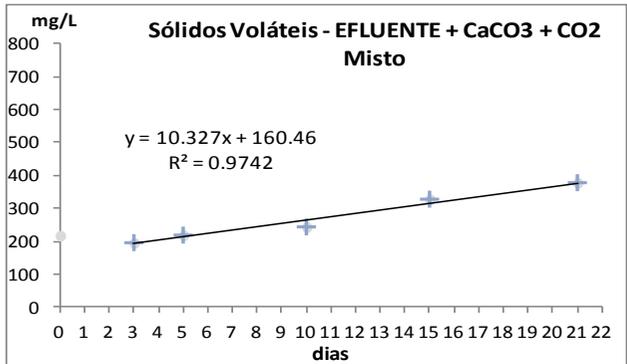
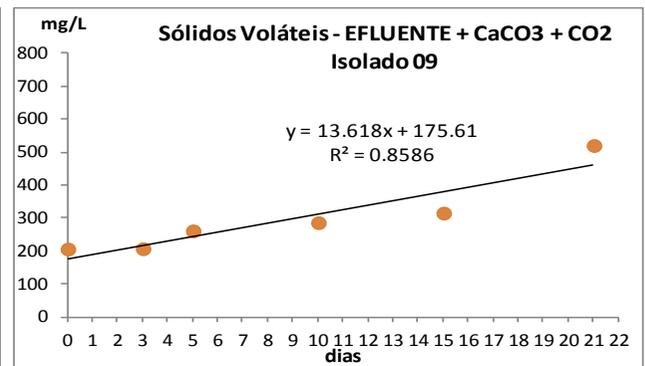
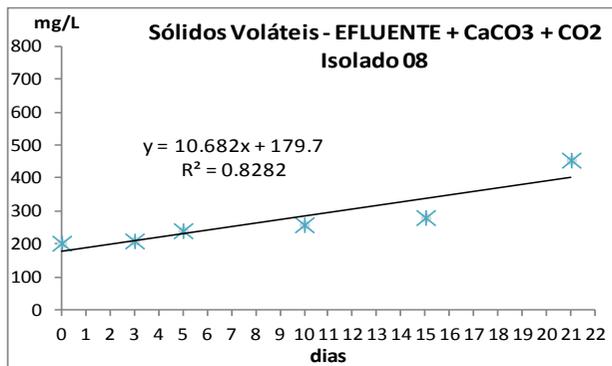
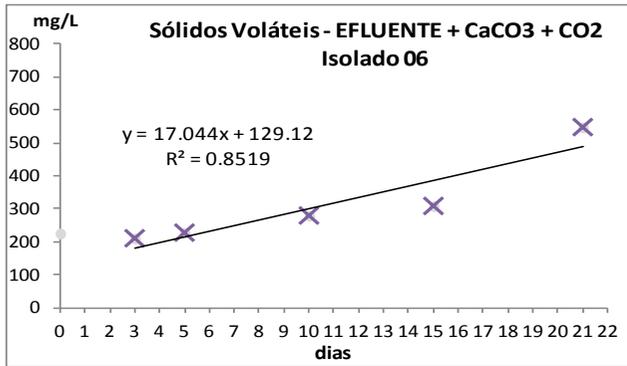
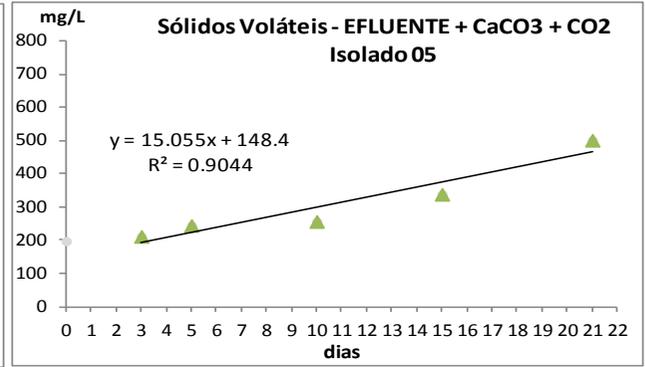
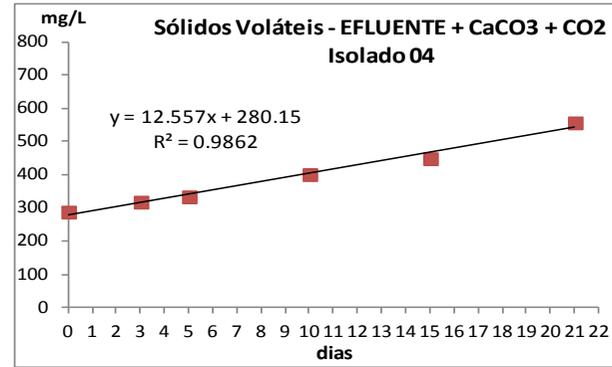
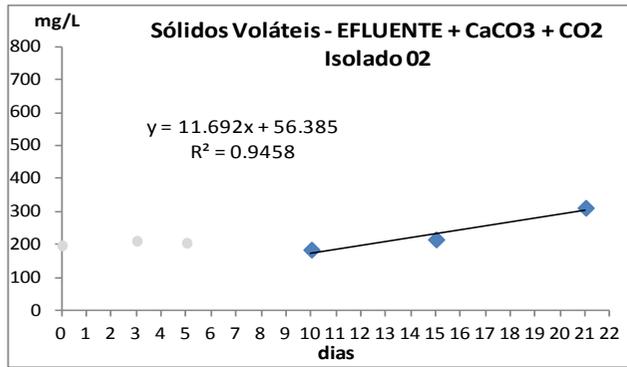
APÊNDICE II.35 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,15% de CaCO₃, por isolado, com base em sólidos voláteis.



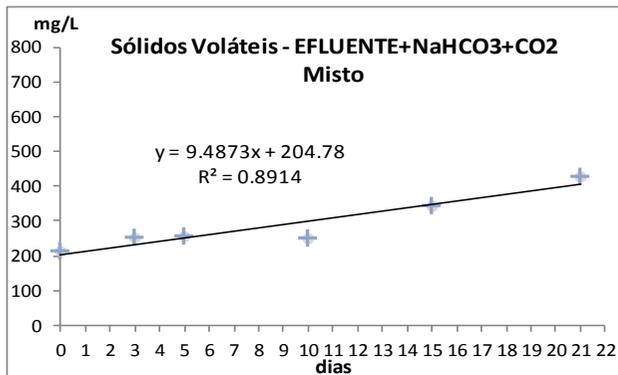
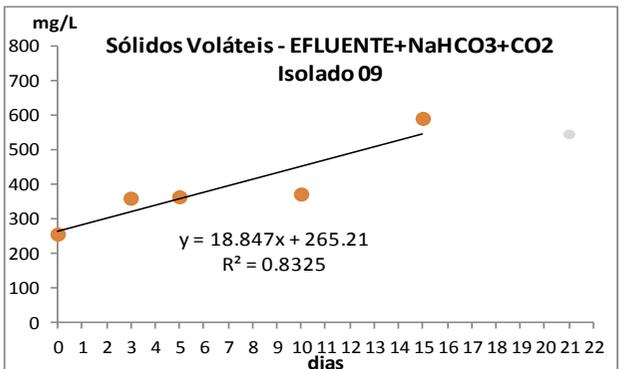
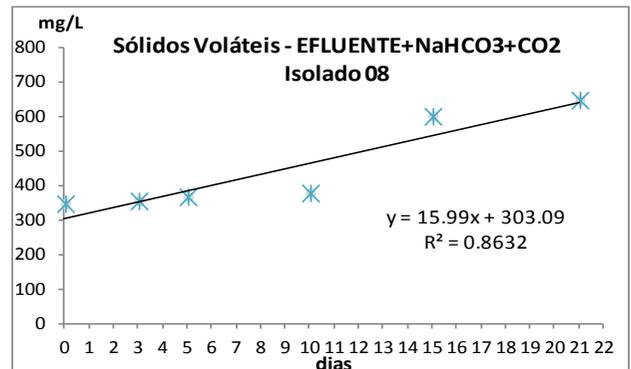
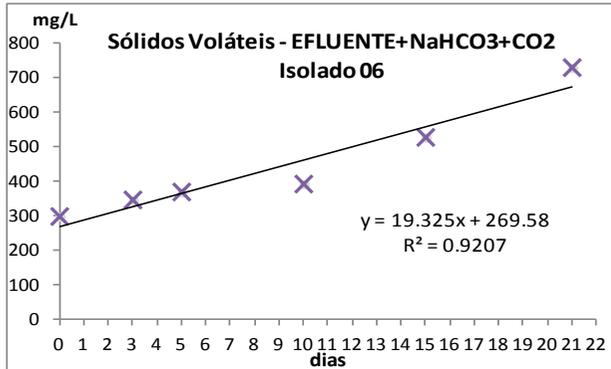
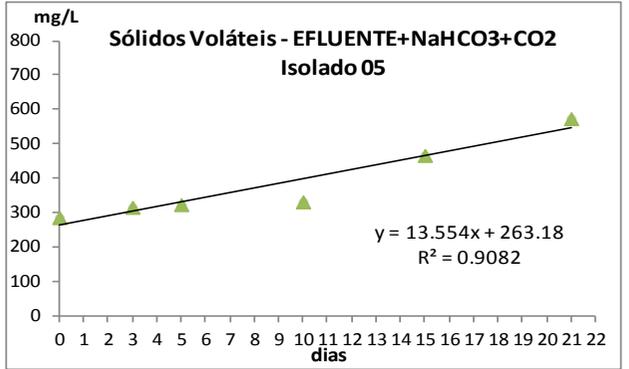
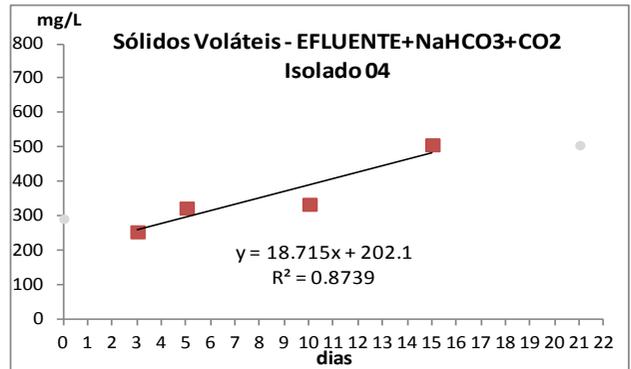
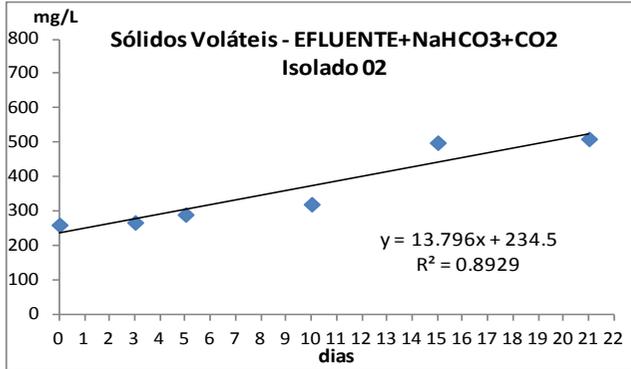
APÊNDICE II.36 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,25% de NaHCO₃, por isolado, com base em sólidos voláteis.



APÊNDICE II.37 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,15% de CaCO₃ e CO₂ atmosférico, por isolado, com base em sólidos voláteis.

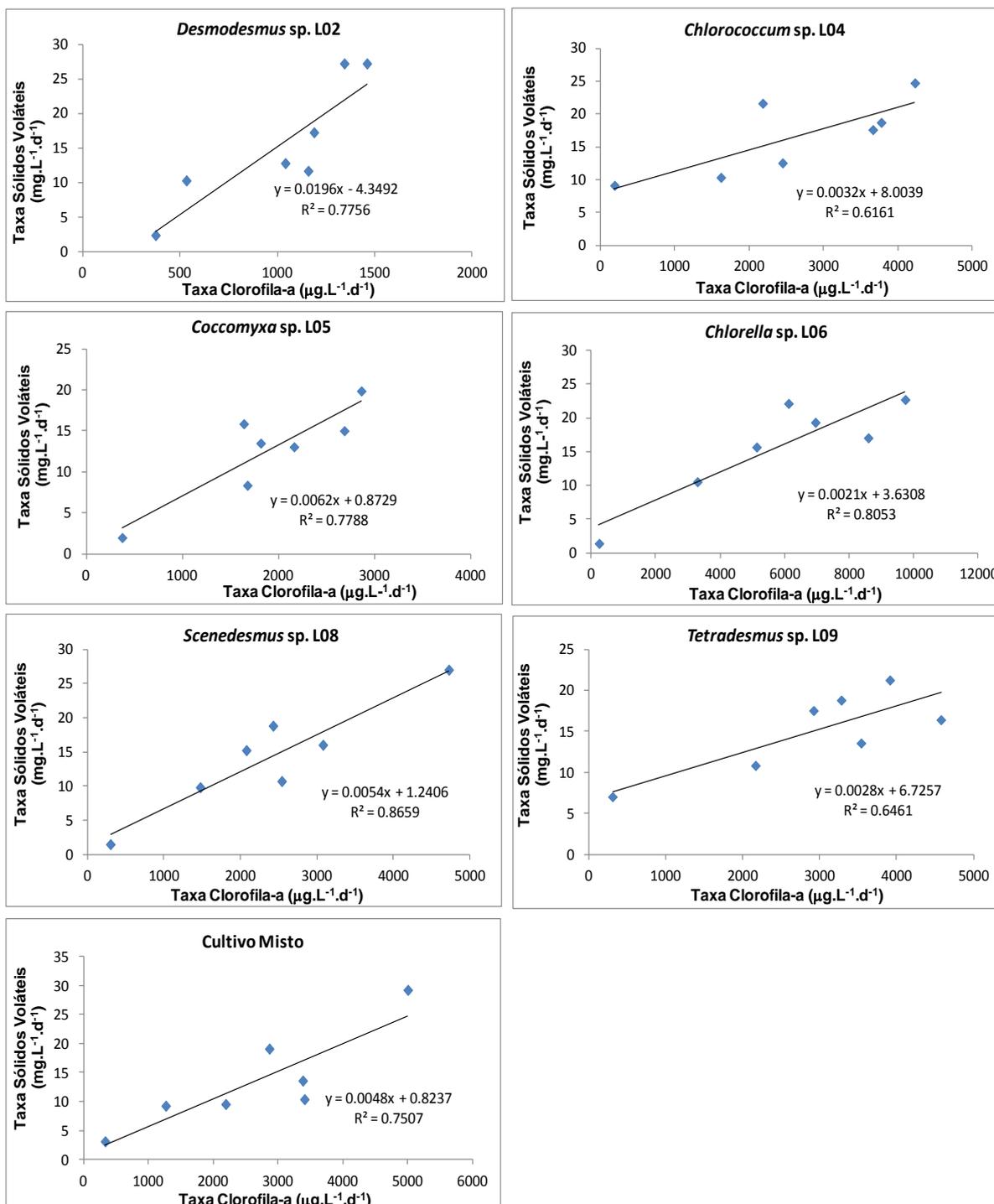


APÊNDICE II.38 Regressão linear para cálculo da taxa de crescimento de microalgas em efluente de UASB autoclavado com adição de 0,25% de NaHCO₃ e CO₂ atmosférico, por isolado, com base em sólidos voláteis.



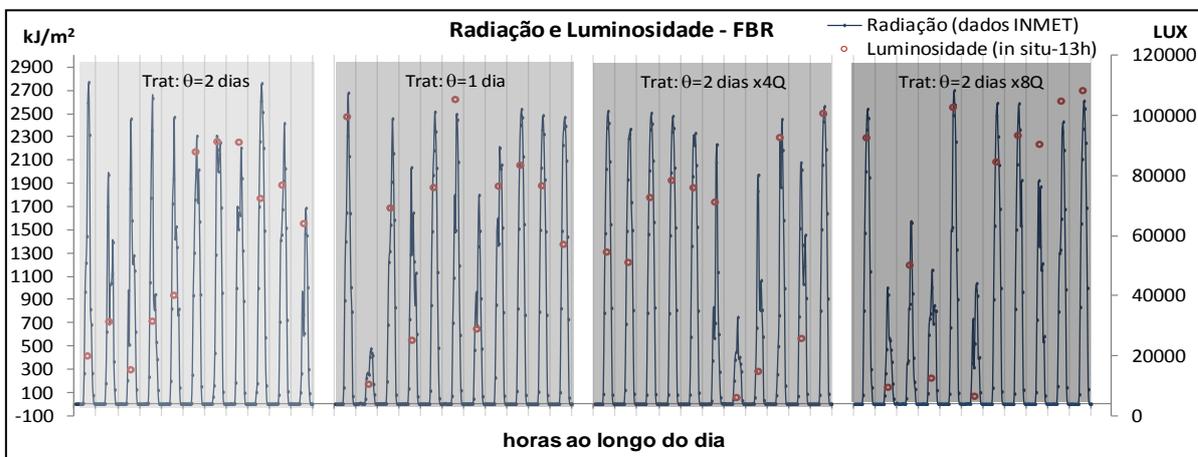
APÊNDICE II.39

Correlações lineares entre taxa de crescimento com base em sólidos voláteis e com base em clorofila-a do cultivo das microalgas *Desmodesmus* sp. L02, *Chlorococcum* sp. L04; *Coccomyxa* sp. L05; *Chlorella* sp. L06; *Scenedesmus* sp. L08 e *Tetradismus* sp. L09 e um cultivo misto em efluente de tratamento de esgoto com a 7 (sete) diferentes inserções de CO₂, sob temperatura ambiente, luminosidade de 4.700 lx e fotoperíodo de 12h/12h.



APÊNDICE III.40

Dados de temperatura ambiente fornecido pelo INMET (Est.A612) e da temperatura do cultivo medido *in situ* no momento da coleta das amostras para análise, 13h.



APÊNDICE III.41

Resultados de **clorofila-a** ($\mu\text{g/L}$) durante o cultivo de microalgas no FBR-TPSF em efluente de UASB, sob condições naturais de temperatura e luminosidade ($\bar{x}\pm$ desvio padrão, $n=9$).

| Trat | Dias de cultivo | | | | | |
|----------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1d | 450,1 \pm 58,6 | 939,1 \pm 126,2 | 1.587,4 \pm 50,7 | 1.507,1 \pm 19,5 | 1.329,3 \pm 7,9 | 1.622,9 \pm 57,6 |
| 2d | 307,6 \pm 3,2 | 1.662,0 \pm 248,4 | 3.579,9 \pm 116,1 | 3.539,8 \pm 108,2 | 2.340,4 \pm 167,2 | 3.146,3 \pm 44,0 |
| 2dx4Q | 116,6 \pm 2,5 | 285,9 \pm 8,4 | 543,9 \pm 20,2 | 914,9 \pm 57,9 | 1.468,3 \pm 66,0 | 1.759,3 \pm 128,6 |
| 2dx8Q | 220,9 \pm 20,4 | 571,7 \pm 17,6 | 532,3 \pm 9,1 | 373,7 \pm 6,2 | 471,1 \pm 15,4 | 564,2 \pm 48,4 |
| <i>(Continuação)</i> | | | | | | |
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| 1d | 2212,4 \pm 162,7 | 1531,9 \pm 31,9 | 1404,1 \pm 7,0 | 1094,5 \pm 313,1 | 1396,9 \pm 115,9 | |
| 2d | 1528,8 \pm 179,2 | 1186,1 \pm 31,8 | 2079,0 \pm 41,6 | 1830,7 \pm 87,1 | 1769,0 \pm 93,4 | |
| 2dx4Q | 1961,3 \pm 53,7 | 1352,0 \pm 41,8 | 1355,2 \pm 25,8 | 1634,3 \pm 154,6 | 1868,9 \pm 74,4 | |
| 2dx8Q | 740,9 \pm 28,2 | 793,4 \pm 54,5 | 979,8 \pm 19,2 | 1237,7 \pm 33,1 | 1193,7 \pm 48,4 | |

APÊNDICE III.42

Resultados de **sólidos voláteis** (mg/L) durante o cultivo de microalgas no FBR-TPSF em efluente de UASB, sob condições naturais de temperatura e luminosidade ($\bar{x}\pm$ desvio padrão, $n=3$).

| Trat | Dias de cultivo | | | | MÉDIA |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | |
| 1d | 195,0 \pm 1,0 | 193,0 \pm 33,9 | 290,0 \pm 25,1 | 234,0 \pm 57,9 | 228,0 |
| 2d | 179,7 \pm 25,5 | 217,3 \pm 26,5 | 267,3 \pm 57,0 | 221,7 \pm 19,6 | 221,5 |
| 2dx4Q | 137,3 \pm 4,6 | 158,0 \pm 8,0 | 163,3 \pm 17,0 | 151,3 \pm 14,0 | 152,5 |
| 2dx8Q | 135,3 \pm 7,6 | 132,0 \pm 11,1 | 127,3 \pm 18,1 | 103,3 \pm 7,6 | 124,5 |

APÊNDICE III.43

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores (%) de **proteínas totais, lipídios totais e carboidratos totais** de biomassa seca do lodo microalgáceo do cultivo no FBR-TPSF em efluente de UASB.

| FONTES DE VARIAÇÃO | GL | SQ | QM |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 2 | 260,087 | 130,043 |
| Erro | 33 | 880,785 | 26,690 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 4,8723 | --- | --- |
| (p) = | 0,0138 | --- | --- |
| Média 1 = Proteína | 17,1583 | --- | --- |
| Média 2 = Lipídio | 11,3159 | --- | --- |
| Média 3 = Carboidrato | 11,6083 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | T | (p) |
|-------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (1 e 2) = | 5,8424 | 2,7701 | 0,0091 |
| Médias (1 e 3) = | 5,5500 | 2,6314 | 0,0128 |
| Médias (2 e 3) = | 0,2924 | 0,1386 | ns |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE III.44

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores (%) de **proteínas totais** de biomassa seca do lodo microalgáceo do cultivo no FBR-TPSF em efluente de UASB, submetidos aos testes operacionais: TDH=1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL | SQ | QM |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 3 | 629,303 | 209,768 |
| Erro | 8 | 5,167 | 0,646 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 324,8013 | --- | --- |
| (p) = | < 0,0001 | --- | --- |
| Média 1 = 1d | 25,0667 | --- | --- |
| Média 2 = 2d | 23,2667 | --- | --- |
| Média 3 = 2dx4Q | 12,5667 | --- | --- |
| Média 4 = 2dx8Q | 7,7333 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (1 e 2) = | 1,8000 | 2,7432 | 0,0253 |
| Médias (1 e 3) = | 12,5000 | 19,0500 | < 0,001 |
| Médias (1 e 4) = | 17,3333 | 26,4160 | < 0,001 |
| Médias (2 e 3) = | 10,7000 | 16,3068 | < 0,001 |
| Médias (2 e 4) = | 15,5333 | 23,6728 | < 0,001 |
| Médias (3 e 4) = | 4,8333 | 7,3660 | < 0,001 |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE III.45

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores (%) de **lipídios totais** de biomassa seca do lodo microalgáceo do cultivo no FBR-TPSF em efluente de UASB, submetidos aos testes operacionais: TDH=1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL | SQ | QM |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 3 | 20,439 | 6,813 |
| Erro | 8 | 4,909 | 0,614 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 11,1037 | --- | --- |
| (p) = | 0,0037 | --- | --- |
| Média 1 = 1d | 13,5161 | --- | --- |
| Média 2 = 2d | 11,0321 | --- | --- |
| Média 3 = 2dx4Q | 10,1917 | --- | --- |
| Média 4 = 2dx8Q | 10,5238 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (1 e 2) = | 2,4840 | 3,8839 | 0,0046 |
| Médias (1 e 3) = | 3,3245 | 5,1980 | < 0,001 |
| Médias (1 e 4) = | 2,9923 | 4,6787 | 0,0016 |
| Médias (2 e 3) = | 0,8405 | 1,3141 | ns |
| Médias (2 e 4) = | 0,5083 | 0,7948 | ns |
| Médias (3 e 4) = | 0,3321 | 0,5193 | ns |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE III.46

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores de **carboidratos totais** de biomassa seca do lodo microalgáceo do cultivo no FBR-TPSF em efluente de UASB, submetidos aos testes operacionais: TDH=1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q.

| FONTES DE VARIACÃO | GL | SQ | QM |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 3 | 161,323 | 53,774 |
| Erro | 8 | 59,647 | 7,456 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 7,2124 | --- | --- |
| (p) = | 0,0119 | --- | --- |
| Média 1 = 1d | 9,7333 | --- | --- |
| Média 2 = 2d | 6,8000 | --- | --- |
| Média 3 = 2dx4Q | 13,4000 | --- | --- |
| Média 4 = 2dx8Q | 16,5000 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (1 e 2) = | 2,9333 | 1,3157 | ns |
| Médias (1 e 3) = | 3,6667 | 1,6446 | ns |
| Médias (1 e 4) = | 6,7667 | 3,0351 | 0,0161 |
| Médias (2 e 3) = | 6,6000 | 2,9603 | 0,0181 |
| Médias (2 e 4) = | 9,7000 | 4,3508 | 0,0024 |
| Médias (3 e 4) = | 3,1000 | 1,3905 | ns |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE III.47

Análise de variância* (ANOVA), seguido do teste de média (Teste t) entre teores de **sólidos voláteis** de biomassa seca do lodo microalgáceo do cultivo no FBR-TPSF em efluente de UASB, submetidos aos testes operacionais: TDH=1d, 2d, 2dx4Q e 2dx8Q.

| FONTES DE VARIÇÃO | GL | SQ | QM |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Tratamentos | 3 | 174,460 | 58,153 |
| Erro | 8 | 0,747 | 0,093 |
| | --- | --- | --- |
| F = | 623,0714 | --- | --- |
| (p) = | < 0,0001 | --- | --- |
| Média 1 = 1d | 52,8667 | --- | --- |
| Média 2 = 2d | 46,6333 | --- | --- |
| Média 3 = 2dx4Q | 51,3667 | --- | --- |
| Média 4 = 2dx8Q | 43,2667 | --- | --- |

| Teste t: | Diferença | t | (p) |
|-------------------|------------------|----------|------------|
| Médias (1 e 2) = | 6,2333 | 24,9890 | < 0,001 |
| Médias (1 e 3) = | 1,5000 | 6,0134 | < 0,001 |
| Médias (1 e 4) = | 9,6000 | 38,4857 | < 0,001 |
| Médias (2 e 3) = | 4,7333 | 18,9756 | < 0,001 |
| Médias (2 e 4) = | 3,3667 | 13,4967 | < 0,001 |
| Médias (3 e 4) = | 8,1000 | 32,4723 | < 0,001 |

*Estatística realizada com o programa BioEstat 5.0.

APÊNDICE III.48

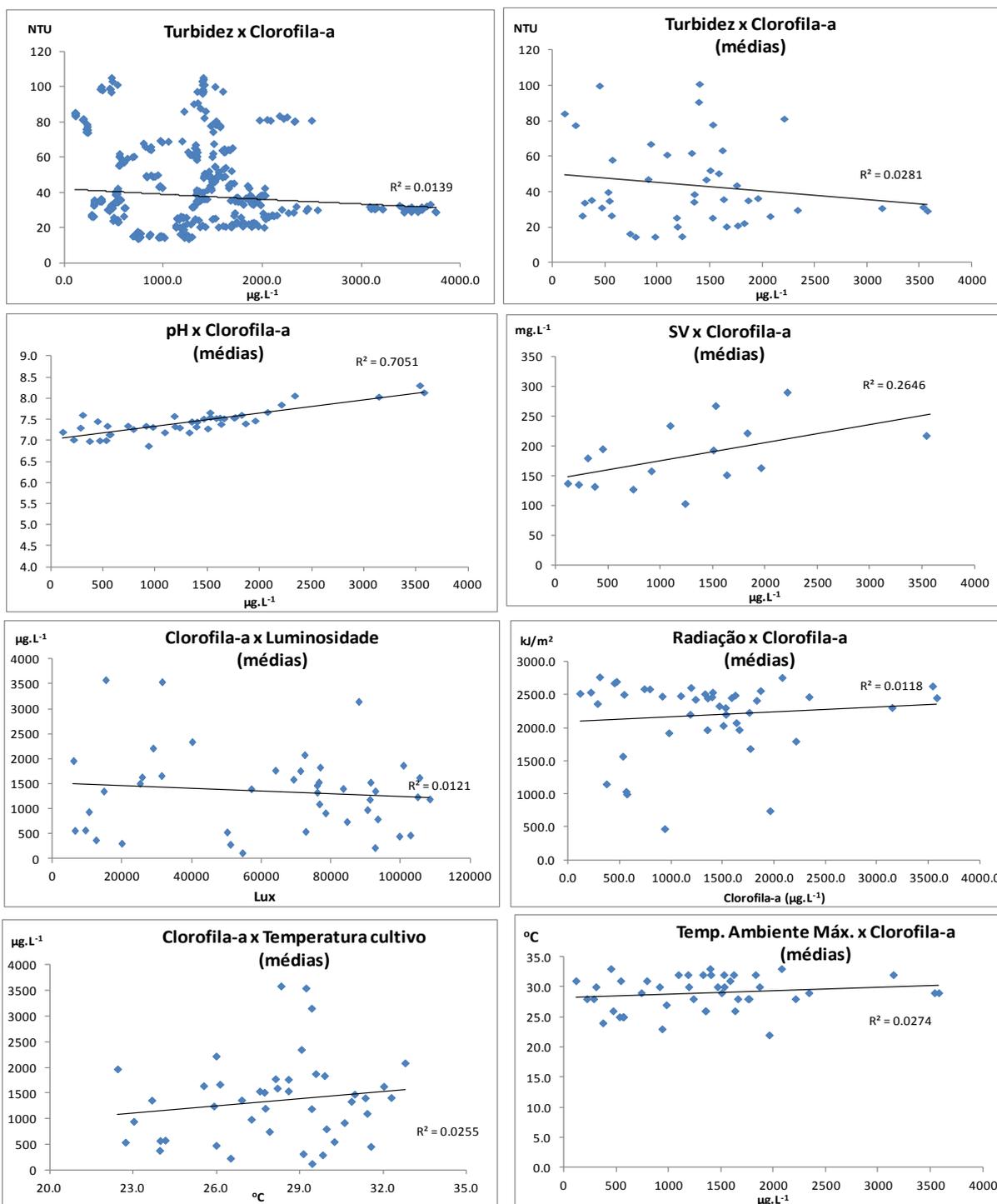
Resultados da caracterização físico-química da biomassa microalgácea produzida no FBR-TPSF sob diferentes tempos de detenção hidráulica ($\bar{x} \pm$ desvio padrão, $n=3$).

| | %Proteína totais | %Lipídios totais | %Carboidratos totais | %SV |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------|
| 1d | 25,1±0,5 <i>a</i> | 13,5±0,2 <i>a</i> | 9,7±0,6 <i>ab</i> | 52,9±0,1 <i>a</i> |
| 2d | 23,3±1,1 <i>b</i> | 11,0±1,3 <i>b</i> | 6,8±1,5 <i>a</i> | 46,6±0,5 <i>b</i> |
| 2dx4Q | 12,6±0,4 <i>c</i> | 10,2±0,4 <i>b</i> | 13,4±4,6 <i>bc</i> | 51,4±0,4 <i>c</i> |
| 2dx8Q | 7,7±1,0 <i>d</i> | 10,5±0,8 <i>b</i> | 16,5±2,4 <i>c</i> | 43,3±0,2 <i>d</i> |
| Média | 17,2 | 11,3 | 11,6 | |

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente ao nível de $P=0,05$).

APÊNDICE III.49

Correlações lineares entre os parâmetros do cultivo das microalgas no FBR-TPSF e condições ambientais.



APÊNDICE 50

Identificação dos protocolos das análises realizadas nos experimentos.

| Parâmetro | Método | Referência |
|--|---|--|
| DQO | Oxidação por Dicromato de Potássio em Meio Ácido | Standard Methods 5220 D |
| DBO₅ | Método Respirométrico- Determinação do Oxigênio Dissolvido antes e após incubamento a 20°C por 5 dias | Standard Methods 5210 D |
| SVT | Método Gravimétrico – secagem a 103°C até peso constante | Standard Methods 2540 |
| pH | Método Eletrométrico | Standard Methods 4500-H*B |
| Turbidez | Método Nefelométrico | Standard Methods 2130 B |
| Temperatura | Termômetro ambiente e de contato | Standard Methods 2550 B |
| P_{total} | Método do Ácido Ascórbico pela Oxidação em Meio Ácido | Standard Methods 4500 P |
| Nitrogênio NTK e N-NH₄ | Método Semi-Micro Kjeldahl | Standard Methods 4500 C |
| Clorofila-a | Por Espectrofotometria UV/Vis por Fluorimetria | Standard Methods 10200 H e <i>in vivo</i> |
| Teor de Lipídios totais | Extração e Método Gravimétrico ou Leitor de O&G) | BLIGH & DYER (1959) |
| Teor de Carboidratos totais | Método Espectrofotometria | DUBOIS <i>et al.</i> (1956) |
| Teor de Proteínas totais | Método Semi-Micro Kjeldahl. | Standard Methods 4500- C e posterior Conversão NTK em proteína |