



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO TECNOLÓGICO**  
**DEPARTAMENTO DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

**Sara Aparecida Francisco**

**RECUPERAÇÃO DE MICROALGAS CULTIVADAS EM EFLUENTE DE  
TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ESGOTO POR PROCESSO DE  
COAGULAÇÃO-FLOCULAÇÃO**

VITÓRIA  
2016

**Sara Aparecida Francisco**

**RECUPERAÇÃO DE MICROALGAS CULTIVADAS EM EFLUENTE DE  
TRATAMENTO ANAERÓBIO DE ESGOTO POR PROCESSO DE  
COAGULAÇÃO-FLOCULAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental do Centro Tecnológico da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Sérvio Túlio Alves Cassini

VITÓRIA

2016

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço imensamente:

À minha família, pelo amor incondicional e pela dedicação incansável à minha vida e à minha realização pessoal e profissional.

Aos meus amigos, pelo apoio, incentivo e torcida pela realização dos meus sonhos.

Aos meus colegas do LABSAN, por toda ajuda nas horas difíceis, tanto prática como intelectual, e toda a felicidade pela conquista de um bom resultado.

Ao meu orientador, pela confiança no meu trabalho e apoio constante.

“Existe uma coisa que uma longa existência me ensinou: toda a nossa ciência, comparada à realidade, é primitiva e inocente; e, portanto, é o que temos de mais valioso”.

**Albert Einstein**

## RESUMO

A recuperação da biomassa microalgácea (BMA) é uma etapa crítica no processo de separação de biomassa para diversas aplicações, principalmente na produção de combustíveis. Entre os processos existentes para a separação da biomassa do meio aquoso, a floculação tem sido escolhida como o processo mais economicamente vantajoso. O objetivo deste trabalho foi avaliar coagulantes alternativos para recuperação de BMA crescida em efluente anaeróbio e caracterizar a qualidade dos efluentes após recuperação. Tanino modificado, amido catiônico e sulfato de alumínio promoveram remoção de mais de 90% de biomassa em concentrações maiores que 80 mg/L, na faixa de pH de 7 a 10, sendo que o amido catiônico foi o coagulante que promoveu a maior remoção de biomassa nos pHs avaliados. O pó das sementes de Moringa (*Moringa oleífera*) e a goma de quiabo (*Hibiscus esculentus*) promoveram apenas remoções de, em média, 50%, na faixa ácida de pHs avaliados. Os efluentes gerados após sedimentação da biomassa apresentaram remoções maiores que 80% para fósforo e nitrogênio e maiores que 50% para DBO e DQO, utilizando-se os coagulantes sulfato de alumínio, tanino modificado e amido catiônico. A biomassa recuperada a partir do uso de amido catiônico apresentou maior biodegradabilidade em relação às biomassas recuperadas a partir do uso de sulfato de alumínio e de tanino modificado. A biomassa recuperada a partir do sulfato de alumínio (BMA-AS) apresentou maiores valores de  $CE_{50}$ , enquanto a BMA recuperada a partir dos polímeros orgânicos naturais à base de tanino e amido apresentaram 50% menores que o valor apresentado para a BMA-AS. O sulfato de alumínio, utilizado como referencial na recuperação de microalgas, pode ser substituído por coagulantes naturais, para uma faixa ampla de pH, sem diminuir a eficiência de remoção de biomassa.

**Palavras-chave:** microalgas, efluente anaeróbio, coagulação-floculação.

## ABSTRACT

Harvesting is a critical step in microalgae biomass production process for many purposes. Among the existing techniques available for harvesting and dewatering microalgae biomass, recovery from aqueous medium by coagulation-flocculation has been the most economically viable process, although highly dependent on pH. This study aims to assess alternative coagulants for microalgae biomass recovery as compared with the standard coagulant aluminium sulphate from anaerobic effluent of domestic sewage treatment. The effluent quality was also analysed after biomass recovery. Coagulants represented by modified tannin, cationic starch and aluminium sulphate recovered more than 90% of algae biomass, at concentrations greater than 80 mg/L, in the pH range 7-10. Cationic starch promoted higher microalgae biomass recovery with the wider pH range. Seeds of *Moringa Oleifera* and *Hibiscus esculentus* (okra) gum promoted biomass removal of 50%, only in the acidic range of pH. The effluents after sedimentation of the microalgae biomass showed removal >80% for phosphorus and nitrogen and >50% for BOD and COD, using aluminium sulphate, cationic starch and modified tannin. MBM recovered from aluminum sulphate (AS-BMA) presented higher EC<sub>50</sub> values, while MBM recovered from natural organic polymers resulted in EC<sub>50</sub> values 50% lower than BMA-AS. Natural organic coagulants in a wide pH range can replace aluminium sulphate, which is a reference in microalgae biomass recovery, without decreasing microalgae biomass harvesting efficiency and the quality of the final effluent.

**Keywords:** microalgae, anaerobic effluent, coagulation-flocculation.

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\bar{x}$ : Média

$\text{Al}_2(\text{SO}_3)_3$ : Sulfato de alumínio

ATP: Adenosina trifosfato

BMA: Biomassa microalgácea

C: Carbono

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ : Hidróxido de cálcio

$\text{CE}_{50}$ : Concentração Letal ou Efetiva Mediana

$\text{CO}_2$ : Dióxido de carbono

$\text{CO}_3^{2-}$ : Íon carbonato

CV: Coeficiente de variação

DBO: Demanda bioquímica de oxigênio

DQO: Demanda química de oxigênio

ETE: Estação de Tratamento de Esgoto

FBR: Fotobiorreator

$\text{GF}_1$ : Gradiente de Velocidade de Flocculação 1

$\text{GF}_2$ : Gradiente de Velocidade de Flocculação 2

GMR: Gradiente de Velocidade de mistura rápida

H: Hidrogênio

$\text{H}^+$ : Íon hidrogênio

$\text{H}_2\text{CO}_3$ : Ácido carbônico

$\text{H}_2\text{O}$ : Água

$\text{HCO}_3^-$ : Íon bicarbonato

Hz: Hertz

KDa: Quilodalton

KV: Quilovolt

KWh: Quilowatt-hora

LABSAN: Laboratório de Saneamento

$\text{Mg}(\text{OH})_2$ : Hidróxido de magnésio

$\text{Mg}^{2+}$ : Íon magnésio

MiliQ: Água deionizada purificada em sistema Milli-Q da Millipore Corporation

MJ: Mega Joule

N: Nitrogênio

NaOH: Hidróxido de sódio

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: Íon amônio

O: Oxigênio

O<sub>2</sub>: Oxigênio gasoso

OD: Oxigênio dissolvido

OH<sup>-</sup>: Íon hidroxila

P.A.: Para Análise

P/V: Relação peso/volume

P: Fósforo

RF<sub>1</sub>: Rotação de Floclulação 1

RF<sub>2</sub>: Rotação de Floclulação 2

RMR: Rotação de mistura rápida

Rpm: Rotações por minuto

SMEWW: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

SST: Sólidos suspensos totais

SSV: Sólidos suspensos voláteis

TF<sub>1</sub>: Tempo de Floclulação 1

TF<sub>2</sub>: Tempo de Floclulação 2

TMR: Tempo de mistura rápida

TS: Tempo de Sedimentação

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo

UNT: Unidade

V/V: Relação volume/volume

V<sub>a</sub>: Volume de amostra

V<sub>s</sub>: Velocidade de Sedimentação

W: Wattz

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Principais possibilidades biotecnológicas e energéticas a partir do processamento de BMA. ....	16
<b>Figura 2:</b> Microscopia eletrônica de células de A) <i>Cyclotella</i> (ZHENG <i>et al.</i> , 2012) e B) <i>Chlorella</i> (GRAHAM <i>et al.</i> , 2012). ....	17
<b>Figura 3:</b> Configurações de FBR do tipo (A) placas planas paralelas (B) anular (C) em domo (adaptado de POSTEN, 2009). ....	24
<b>Figura 4:</b> Esquema de fotobiorreator do tipo tubular em configuração (A) vertical (B) helicoidal (Adaptado de POSTEN (2009) e SCRAGG <i>et al.</i> (2002)). ....	25
<b>Figura 5:</b> Ilustração esquemática dos quatro mecanismos de coagulação. Os círculos com o sinal “-” indicam as cargas negativas da superfície celular e os círculos vermelhos com os sinais “+” indicam as cargas positivas dos coagulantes (MUYLEAERT <i>et al.</i> , 2015). ....	31
<b>Figura 6:</b> Fluxograma descritivo das principais etapas desenvolvidas para o cumprimento dos objetivos apresentados. ....	44
<b>Figura 7:</b> Esquema ilustrativo do sistema piloto de produção de BMA. ....	46
<b>Figura 8:</b> (A) tanino modificado Tanfloc® Pop em pó; (B) solução de 5 g/L de Tanfloc® Pop, dissolvido em água destilada. ....	49
<b>Figura 9:</b> (A) semente seca de <i>M. oleífera</i> ; (B) produto obtido do processamento das sementes secas peneirados em malha de 32 <i>mesh</i> ; (C) produto obtido do processamento das sementes secas peneirados em malha de 60 <i>mesh</i> ; (D) solução coagulante obtida a partir do pó peneirado em malha de 60 <i>mesh</i> em água destilada. ....	50
<b>Figura 10:</b> (A) Amido de mandioca catiônico SUPERION® 300; (B) solução de amido obtida da mistura do pó com água destilada e solubilizada a 60°C em chapa aquecedora. ....	50
<b>Figura 11:</b> Fluxograma representativo das quatro macro-etapas do processo de produção do polímero coagulante à base da goma de quiabo: Limpeza e Corte, Extração, Precipitação e Lavagem e Refino. ....	51
<b>Figura 12:</b> Etapa de extração da baba do quiabo (fração solúvel em água): (A) filtração do conteúdo obtido a partir das vagens do quiabo em malha de musseline; (B) frações sólidas; (C) fração solúvel em água extraída do quiabo ( <i>H. esculentus</i> ). ....	52

<b>Figura 13:</b> Etapas de extração da goma do quiabo: (A) extração da goma do quiabo em etanol; (B) lavagem em acetona para extração de impurezas e pigmentos; (C) solubilizado da goma obtida, em água destilada, à 65°C em chapa aquecedora. ....	52
<b>Figura 14:</b> Equipamento utilizado para os Testes de Jarros ( <i>Jar-Test</i> ). .....	54
<b>Figura 15:</b> Fluxograma das etapas realizadas na determinação da ecotoxicidade das amostras de biomassa recuperadas. ....	56
<b>Figura 16:</b> Esquema ilustrativo da determinação da ecotoxicidade da biomassa recuperada pelo teste de luminescência. ....	57
<b>Figura 17:</b> (A) Homogeneizador mecânico; (B) Homogeneizador ultrassônico; (C) Aparelho Microtox® .....	58
<b>Figura 18:</b> Sistema piloto do FBR aberto em batelada para de produção de BMA, localizado nas dependências do Núcleo Água, na Universidade Federal do Espírito Santo - UFES. ....	60
<b>Figura 19:</b> Imagens de microscopia óptica, com aumento de 40x, das principais espécies de microalgas com crescimento em efluente de UASB. A, B e C representam as espécies <i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Chlorella sp.</i> e <i>Synechocystis sp.</i> , respectivamente. ....	63
<b>Figura 20:</b> Imagens de placas de Petri com crescimento de BMA cultivada no FBR. As setas indicam colônias de fungos e bactérias encontrados juntamente com a BMA. ....	63
<b>Figura 21:</b> Concentrações de clorofila- $\alpha$ e das relações SSV/SST diárias, ao longo de 8 dias de crescimento (Barras de erros = $\pm 5\%$ , n=6). ....	64
<b>Figura 22:</b> Ciclo de variação diário de pH e de temperatura do meio de efluente de UASB e a BMA associada, ao longo de 8 dias de crescimento, através das médias dos valores obtidos em 6 bateladas. ....	64
<b>Figura 23:</b> Comportamento do cultivo de microalgas no teste de jarros utilizando-se o coagulante sulfato de alumínio, em pH de 7,0. A) cultura de microalgas precedida da adição do coagulante; B) flocos formados após o mecanismo de coagulação-floculação; C) flocos sedimentados no fundo dos jarros. ....	66
<b>Figura 24:</b> Diagramas de coagulação estabelecidos a partir dos testes de jarros realizados para os diferentes coagulantes (n=2). .....	67
<b>Figura 25:</b> Imagens de microscopia óptica para avaliação do efeito dos coagulantes na biomassa de microalgas. Amostra controle sem adição de coagulante (A, B,C,D); Amostra tratada com 80 mg/L de amido catiônico (E,F,G,H); Amostra tratada com 80	

mg/L de Sulfato de Alumínio (I, J, K, L) e amostra tratada com tanino modificado (M, N, O, P). Barra de escala: 100 µm, 50 µm, 20 µm e 10 µm respectivamente. ....72

**Figura 26:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura para avaliação do efeito dos coagulantes na biomassa de microalgas. Amostra controle sem adição de coagulante (A, B); Amostra tratada com 80 mg/L de amido catiônico (C, D); Amostra tratada com 80 mg/L de Sulfato de Alumínio (E, F) e amostra tratada com tanino modificado (G, H). Barra de escala 10 µm e 5 µm respectivamente. ....74

**Figura 27:** Relação SSV/SST das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, denominadas por BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO, respectivamente (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.....75

**Figura 28:** Valores de CE<sub>50</sub>, para o teste agudo, com tempo de contato com a amostra de 15 minutos encontrados, para as BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey. \*Não foi detectada toxicidade pelo teste agudo em Microtox®. ....77

**Figura 29:** Valores de pH remanescente das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey. As barras vermelha e verde representam a faixa de pH adequado, respectivamente, para digestão anaeróbia (ZAMOLLA *et al.*, 2011).....78

**Figura 30:** Valores de pH dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, EFTP, EACS, ESAL e EUASB (n=3). As barras vermelha e verde representam os limites inferior e superior de pH, respectivamente, estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.....80

**Figura 31:** Valores de nitrogênio amoniacal total dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, EFTP, EACS, ESAL e EUASB. A barra vermelha

representa o limite de concentração de nitrogênio amoniacal total, estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.....82

**Figura 32:** Valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, ETFP, EACS, ESAL e EUASB. A barra vermelha representa o limite de concentração de DBO, estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.....83

**Figura 33:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante sulfato de alumínio. .... 106

**Figura 34:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de tanino modificado. .... 106

**Figura 35:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de amido catiônico..... 107

**Figura 36:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de sementes de *M. oleifera*. .... 107

**Figura 37:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de goma de quiabo (*H. esculentus*)..... 108

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Teor de lipídios em diferentes espécies de microalgas, em porcentagem de massa seca. ....	18
<b>Tabela 2:</b> Principais vantagens e desvantagens de diferentes configurações de fotobiorreatores (adaptado de UGWU <i>et al.</i> (2008), POSTEN (2009) e BAHADAR & KHAN (2013)). ....	26
<b>Tabela 3:</b> Doses e faixas de pH que promovem a coagulação de microalgas para diferentes coagulantes (UDUMAN <i>et al.</i> , 2010).....	34
<b>Tabela 4:</b> Atividades coagulantes de cultura de <i>Chlorella sp</i> utilizando diferentes derivados da semente de <i>M. oleífera</i> (Fonte: modificado de HAMID <i>et al.</i> , 2014). ...	37
<b>Tabela 5:</b> Floculação de diferentes microalgas induzida por pH (GONZÁLEZ-FERNANDEZ, 2013). ....	39
<b>Tabela 6:</b> Eficiências de recuperação de BMA por diferentes métodos de recuperação (UDUMAN <i>et al.</i> , 2010). ....	42
<b>Tabela 7:</b> Principais vantagens e desvantagens de diferentes metodologias de BMA (GRIMA <i>et al.</i> , 2003; SHARMA <i>et al.</i> , 2011; MOAZAMI <i>et al.</i> , 2012; LIVE FUELS INC., 2012; GONZÁLEZ-FERNANDES, 2011; VANDAMME <i>et al.</i> , 2013; GERDE <i>et al.</i> , 2014). ....	43
<b>Tabela 8:</b> Valores médios ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) de parâmetros físico-químicos do efluente Anaeróbico (UASB) e utilizado para o isolamento, caracterização, crescimento e manutenção de microalgas (n=3).....	45
<b>Tabela 9:</b> Parâmetros hidráulicos estabelecidos para a realização dos testes de coagulação. ....	53
<b>Tabela 10:</b> Valores médios ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) dos principais parâmetros físico-químicos avaliados para o efluente de UASB, filtrado em filtro de areia e brita, e para o cultivo de BMA (n=3). ....	61
<b>Tabela 11:</b> Doses e valores de pH ótimos e suas respectivas eficiências de remoção de BMA para cada polímero avaliado, por meio do processo de coagulação-floculação seguido de sedimentação. ....	68
<b>Tabela 12:</b> Médias ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) dos principais parâmetros de avaliação dos efluentes UASB (EUASB) utilizado para crescimento das microalgas e dos efluentes após a remoção da biomassa pelos coagulantes sulfato de alumínio	

(ESAL), tanino modificado (ETFP) e amido de mandioca catiônico (EACS). Letras diferentes na linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey. ....79

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	OBJETIVOS .....	14
2.1	Objetivo Geral.....	14
2.2	Objetivos Específicos .....	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1	As Microalgas .....	15
3.2	Crescimento de Biomassa Microalgácea .....	18
3.2.1	Seleção de Espécies .....	19
3.2.2	Meio de Cultivo .....	19
3.2.3	Aporte de Carbono .....	20
3.2.4	Temperatura, Luminosidade e pH .....	21
3.2.5	Oxigênio Dissolvido .....	23
3.3	Produção de Biomassa Microalgácea .....	23
3.4	Métodos de Recuperação de Biomassa .....	26
3.4.1	Separação Magnética.....	26
3.4.2	Separação Eletrolítica .....	27
3.4.3	Separação por Membrana .....	28
3.4.4	Deposição gravimétrica ou sedimentação .....	30
3.4.5	Coagulação-Floculação.....	30
3.4.6	Flotação.....	40
3.4.7	Centrifugação .....	41
3.4.8	Visão Geral.....	42
4	METODOLOGIA.....	44
4.1	Condições de Crescimento de Microalgas .....	45
4.2	Caracterização do Efluente de UASB e a BMA Associada .....	46
4.3	Pré-Seleção dos Polímeros de Coagulação .....	47
4.4	Polímeros de Coagulação .....	48
4.4.1	Tanino Modificado .....	48
4.4.2	Pó de Sementes de <i>Moringa Oleifera</i> .....	49
4.4.3	Amido de Mandioca Catiônico SUPERION® 300.....	50
4.4.4	Goma Extraída do Quiabo ( <i>H. esculentus</i> ).....	51

4.4.5	Sulfato de Alumínio .....	53
4.5	Parâmetros Hidráulicos .....	53
4.6	Testes de Jarros e Diagramas de Coagulação.....	53
4.7	Caracterização da BMA Recuperada .....	55
4.8	Caracterização dos Efluentes Pós Sedimentação.....	58
4.9	Tratamento Estatístico.....	59
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
6	CONCLUSÕES .....	84
7	RECOMENDAÇÕES .....	86
8	REFERÊNCIAS .....	87
9	ANEXOS.....	101

## 1 INTRODUÇÃO

Microalgas é uma designação geral, não taxonômica, geralmente referente a microrganismos unicelulares fotossintéticos com crescimento observável em corpos d'água, como componente principal do fitoplâncton. Dentre a grande diversidade de crescimento fitoplantônica, podemos destacar as cianobactérias e as algas eucarióticas, como as diatomáceas (*Bacillariophyta*), algas verdes (*Chlorophyta*) e algas vermelhas (*Rhodophyta*) (BICUDO & MENEZES, 2005).

Para a geração de biomassa, as microalgas dependem de fontes de carbono inorgânico e de nutrientes, os quais incluem, principalmente, nitrogênio e fósforo. Atendidos esses requerimentos nutricionais, as microalgas podem ser cultivadas em diferentes tipos de meio, incluindo as matrizes naturais (água doce, salobras e marinhas), os meios de crescimento sintéticos e até mesmo os efluentes de sistemas de tratamento de esgoto doméstico ou industrial (MATA *et al.*, 2010; FAKIR *et al.*, 2011).

O uso de efluentes para o crescimento de microalgas provê dois benefícios significantes: o tratamento terciário do efluente no final do processo através da incorporação de nutrientes pelas células das microalgas e o crescimento de biomassa de forma rápida e econômica (KUNJAPUR & ELDRIDGE, 2010; MAHAPATRA *et al.*, 2014). O crescimento rápido e a elevada capacidade de conversão energética tem tornado as microalgas uma fonte alternativa para diversos produtos e principalmente na geração de biocombustível, quando comparada à outros sistemas de produção (MATA *et al.*, 2010). Além dos benefícios da produção de biomassa microalgácea (BMA) em meio efluente, as microalgas são capazes de assimilar CO<sub>2</sub> como fonte de carbono para seu crescimento. Cerca de 1,6 a 2,0 g de CO<sub>2</sub> podem ser capturados por cada grama de BMA produzida (ZENG *et al.*, 2011).

A recuperação da BMA do meio de crescimento é um passo crítico no processo de produção de biomassa para obtenção de diversos produtos e geração de biocombustíveis, uma vez que essa etapa pode representar de 20 a 50% do custo total de seu processamento (GRIMA *et al.*, 2003 GREENWELL *et al.*, 2010). Os

principais processos de recuperação de microalgas do meio aquoso incluem: filtração, centrifugação, separação magnética ou eletromagnética, coagulação-floculação, flotação e sedimentação ou, até mesmo, a combinação destes. Contudo, apesar da importância da recuperação de microalgas para a viabilidade econômica e energética da produção de biocombustível, ainda não há um método universalmente aplicável (MILLEDGE & HEAVEN, 2013; CASTRILLO *et al.*, 2013). O mecanismo de coagulação-floculação, seguido de sedimentação, em contrapartida, tem sido o método mais adotado, uma vez que este tem se mostrado economicamente viável para grandes volumes de produção (UDUMAN *et al.*, 2010; GRANADOS *et al.*, 2012).

O processo de coagulação-floculação é capaz de desestabilizar as células microalgáceas e partículas suspensas e dissolvidas por meio da adição de coagulantes (eletrólitos), os quais podem ser sais metálicos ou polímeros naturais ou sintéticos, e de ajuste de pH, proporcionando a formação de agregados que facilitam a sedimentação da BMA (TEIXEIRA *et al.*, 2012). De acordo com Duan & Gregory (2003), o processo de desestabilização das células é extremamente dependente do pH do meio. Coagulantes inorgânicos são eficientes da recuperação de BMA mas requerem altas doses de aplicação e podem contaminar a BMA recuperada com alumínio e ferro. Apesar dos sais metálicos se constituírem como uma referência no processo de coagulação de microalgas, coagulantes orgânicos biodegradáveis não contaminam a BMA e geralmente demandam baixas doses de aplicação, embora sejam extremamente dependentes do pH. Devido a isso, coagulantes obtidos a partir de polímeros naturais são uma alternativa mais segura (GERDE *et al.*, 2014; BAPTISTA *et al.*, 2015).

Neste trabalho, serão avaliados os coagulantes naturais obtidos a partir de sementes de Moringa, de tanino modificado, de mucilagem do quiabo e de amido de mandioca para a recuperação de microalgas em efluente de reator UASB, pelo processo de coagulação-floculação-sedimentação e avaliar as doses e valores de pH ótimos que proporcionam a melhor recuperação de BMA para cada polímero avaliado.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Recuperar biomassa de microalgas cultivadas em efluente de reator UASB, por meio de coagulação-floculação-sedimentação, utilizando sal inorgânico e polímeros orgânicos naturais.

### **2.2 Objetivos Específicos**

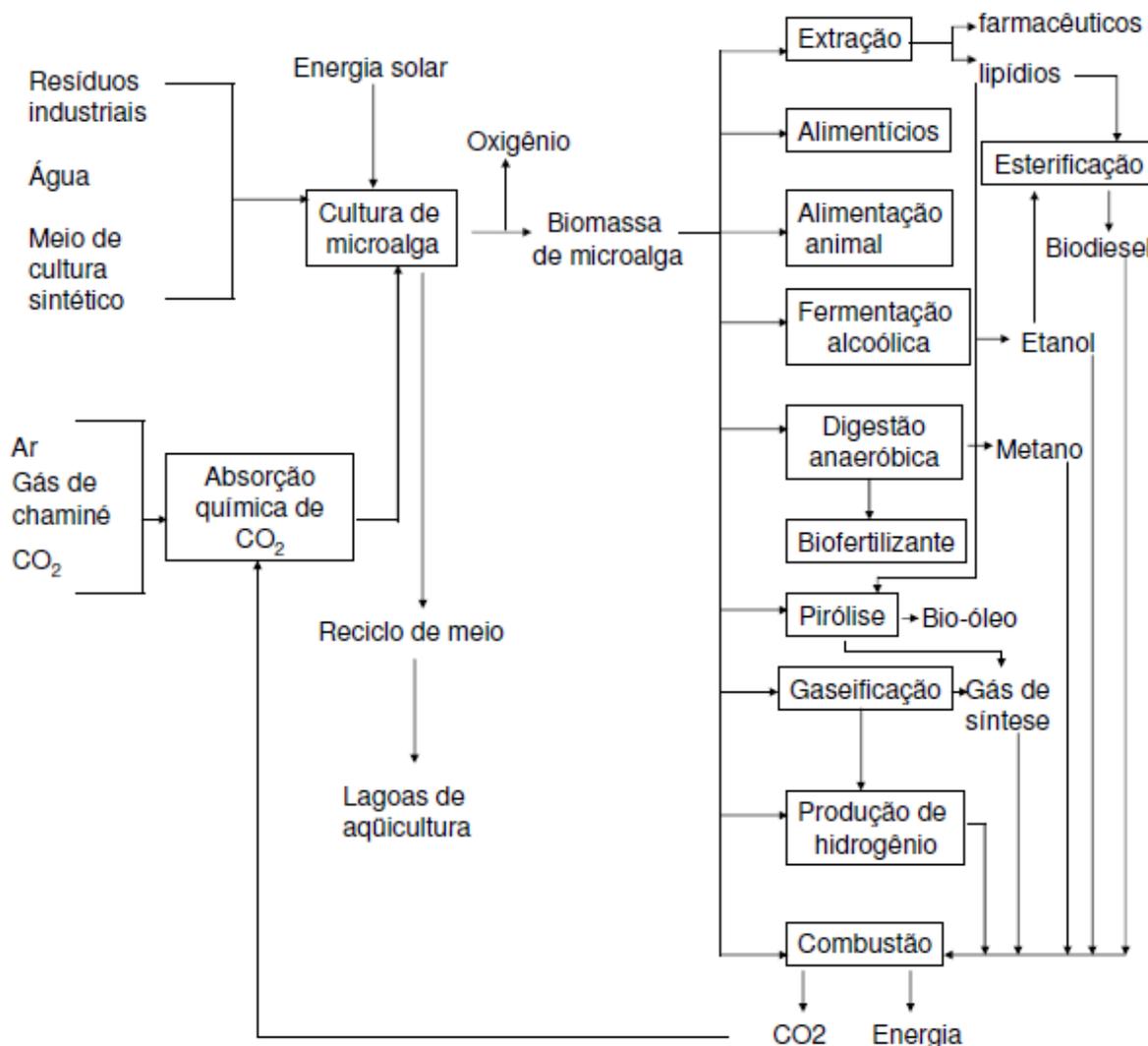
- Identificar, para cada coagulante, a dose e valor de pH que promovam a melhor eficiência na recuperação de biomassa;
- Determinar a ecotoxicidade e a biodegradabilidade da biomassa recuperada;
- Caracterizar os efluentes pós-sedimentação e verificar se estes se encontram dentro dos limites de lançamento de efluentes estabelecidos pela Resolução CONAMA 430/2011.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 As Microalgas

De acordo com Pignolet *et al.* (2013), a designação microalgas refere-se a microrganismos unicelulares com crescimento em diversos ambientes aquáticos. Esses microrganismos incluem as cianobactérias e algas eucarióticas, como as diatomáceas (*Bacillariophyta*), algas verdes (*Chlorophyta*) e algas vermelhas (*Rhodophyta*), as quais possuem pequeno diâmetro, o qual varia de 3 a 50  $\mu\text{m}$  (GRIMA *et al.*, 2003; ROSELET *et al.*, 2015). As microalgas eucarióticas podem ser heterotróficas, as quais sintetizam ácidos graxos a partir de fontes de carbono orgânico (glicose, acetato, etc.), ou autotróficas fotossintéticas, utilizam a energia luminosa para fazer a reação entre carbono e água para a produção de açúcar (GRAHAM *et al.*, 2012). Algumas microalgas podem ser mixotróficas, ou seja, são capazes de combinar a fotossíntese com o metabolismo heterotrófico (PEREIRA *et al.*, 2012; PIGNOLET *et al.*, 2013).

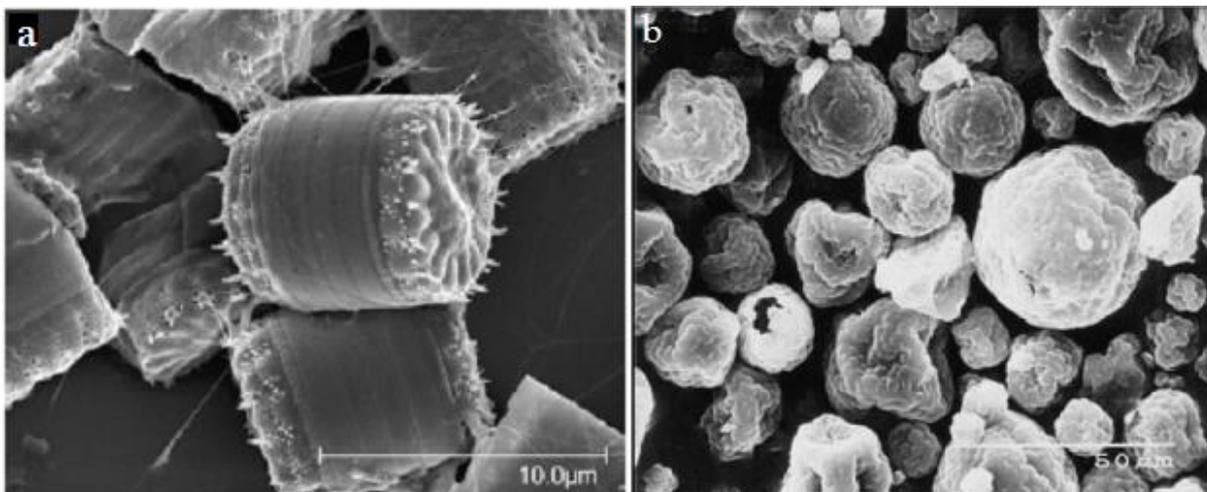
As microalgas são capazes de sintetizar macromoléculas de grande potencial biotecnológico, na produção de vitaminas, proteínas e cosméticos, além de propiciar biomassa capaz de ser convertida em diversos tipos de biocombustíveis, como biodiesel a partir da fração celular lipídica, etanol e metanol a partir da fração polissacarídica, biogás produzido pela digestão anaeróbia da biomassa e biohidrogênio produzido fotobiologicamente (GONZÁLEZ-FERNANDÉZ *et al.*, 2011; SATYANARAYANA *et al.*, 2012; CASTRILLO *et al.*, 2013). O esquema apresentado na **Figura 1** apresenta o processamento da biomassa e os principais mecanismos de transformação da BMA em biocombustíveis.



**Figura 1:** Principais possibilidades biotecnológicas e energéticas a partir do processamento de BMA.

A fração polissacarídica das microalgas demonstra forte viabilidade estrutural para as células e, principalmente, acumulação energética. A condição de limitação de nutrientes, principalmente enxofre, e a adição de inibidores específicos de proteínas podem induzir a produção de polissacarídeos pelas microalgas. A principal classe de microalgas que pode produzir significantes produções de polissacarídeos é a *Chlorella* (**Figura 2**). De acordo com Marsálková *et al.* (2010), culturas de *Chlorella* podem aumentar sua produção de polissacarídeos acima de 65%, quando submetidas a limitação de enxofre. A produção de lipídio, em contrapartida, tem grande relevância na investigação de espécies de microalgas para investimentos em bioenergia, uma vez que a BMA pode produzir significativas quantidades de lipídios, podendo atingir até 70% do seu peso seco. Os principais gêneros que se destacam em pesquisas

energéticas são *Botryococcus*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas* e *Chlorella* (SATYANARAYANA *et al.*, 2011; GRAHAM *et al.*, 2012). Um grande número de diatomáceas também sido investigadas com relação à quantidade de lipídios produzidos, incluindo os gêneros *Amphora*, *Cyclotella* (**Figura 2**) e *Nitzschia*.



**Figura 2:** Microscopia eletrônica de células de A) *Cyclotella* (ZHENG *et al.*, 2012) e B) *Chlorella* (GRAHAM *et al.*, 2012).

A maioria das microalgas acumulam pouca quantidade de lipídeos durante a fase exponencial de crescimento, mas podem produzir e acumular quantidades relevantes durante a fase estacionária, sob condições adversas de cultivo (ZHENG *et al.*, 2012; BREUER *et al.*, 2012; PIGNOLET *et al.*, 2013). De acordo com Gonzáles-Fernandéz *et al.* (2011), a deficiência de nutrientes no meio de crescimento da BMA, principalmente de nitrogênio, leva à acumulação de carbono na forma de lipídeos ou carboidratos. Estudos de Breuer *et al.* (2012) mostraram que, sob condições de deficiência de nitrogênio, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella zofingiensis*, *Neochloris oleoabundans* e *Scenedesmus obliquus* acumulam mais que 35% de suas massas secas como lipídeos.

A **Tabela 1**, a seguir apresenta o teor de lipídios em diferentes espécies de microalgas.

**Tabela 1:** Teor de lipídios em diferentes espécies de microalgas, em porcentagem de massa seca.

<b>Espécie</b>	<b>Teor lipídico (%)</b>	<b>Referência</b>
<i>Botryococcus braunii</i>	70	Xu <i>et al.</i> , 2009
<i>Chlorella sp.</i>	32	Hu <i>et al.</i> , 2008
<i>Chlorella emersonii</i>	63	Liu <i>et al.</i> , 2008
<i>Chlorella minutissima</i>	57	Liu <i>et al.</i> , 2008
<i>Chlorella protothecoides</i>	60	Zhang <i>et al.</i> , 2008
<i>Chlorella vulgaris</i>	53	Widjaja <i>et al.</i> , 2009
<i>Dunaliella primolecta</i>	23	Chisti <i>et al.</i> , 2007
<i>Nitzchia sp.</i>	47	Chisti <i>et al.</i> , 2007
<i>Schizochytrium limacinum</i>	73	Liang <i>et al.</i> , 2010
<i>Schizochytrium sp.</i>	77	Chisti <i>et al.</i> , 2007
<i>Scenedesmus sp.</i>	73	Al Ahmad <i>et al.</i> , 2014

A produção, em larga escala, de lipídios e demais derivados de BMA ainda é considerada não economicamente viável, principalmente devido aos custos de produção e recuperação da BMA, em relação aos custos da produção de combustível a partir de outros cultivares. Entretanto, os custos podem ser reduzidos otimizando-se o crescimento da BMA (BREUER *et al.*, 2012; CARPOGNO *et al.*, 2015).

### 3.2 Crescimento de Biomassa Microalgácea

Existem diversos fatores que influenciam no crescimento de BMA, tanto fatores abióticos, como luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes, O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, pH e salinidade, quanto fatores bióticos como vírus, bactérias e fungos presentes no meio de crescimento, e competição entre as próprias espécies de microalgas. Fatores operacionais de crescimento, como mistura e taxa de diluição, também são fatores importantes na produção de BMA (MATA *et al.*, 2010).

Embora o crescimento de microalgas seja um processo relativamente simples, os sistemas de cultivo podem ser significativamente controlados e otimizados (ZHENG *et al.*, 2012). Os itens subsequentes apresentam uma breve discussão sobre os principais fatores intervenientes no crescimento para produção de BMA.

### 3.2.1 Seleção de Espécies

O crescimento, a capacidade de fixação de CO<sub>2</sub>, a capacidade de acumulação lipídica e a adaptação em diferentes meios de crescimento são uns dos fatores relevantes para a seleção de espécies e cepas adequadas para otimizar a produção bioenergética (MATA *et al.*, 2010).

Os principais critérios na seleção de espécies são: taxa de crescimento, normalmente medida pelo total de biomassa acumulada por unidade de tempo e unidade de volume; distribuição de ácidos graxos livres e triglicerídeos (teor lipídico), um fator crucial na produção de biodiesel; resistência às mudanças das condições ambientais, em particular de temperatura, disponibilidade de nutrientes, luz e competição com outras espécies de microalgas e outros microrganismos como fungos e bactérias; e, fácil recuperação das células da fase líquida (YOO *et al.*, 2010).

### 3.2.2 Meio de Cultivo

O meio de crescimento de BMA se destaca entre os diversos fatores intervenientes na produção de BMA, o qual deve apresentar disponibilidade de nutrientes suficientes e fonte de carbono para realização da fotossíntese (MATA *et al.*, 2010). Os principais elementos para as células microalgáceas são carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e fósforo nas proporções de C<sub>106</sub>H<sub>181</sub>O<sub>45</sub>N<sub>16</sub>P. Outros elementos importantes são os sais inorgânicos de ferro e de magnésio e alguns elementos traços, como, em alguns casos, o silício. As microalgas possuem a capacidade de ser cultivadas em diferentes tipos de meio, incluindo as matrizes aquáticas naturais, os meios de crescimento sintéticos e até mesmo efluentes domésticos e industriais brutos ou tratados por sistemas anaeróbios (FAKIR *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2012).

Experimentos conduzidos por Barrut *et al.* (2013) resultaram na produção de microalgas cultivadas em água doce e em água salgada, em tanques instalados ao ar livre. García-Perez *et al.* (2014), por sua vez, obtiveram, em uma semana, produção de 30 mg de BMA seca por litro de meio sintético WC, com pH ajustado em 8,5.

Chinnasamy *et al.* (2010) obtiveram produção de consórcio de 15 espécies de microalgas em meio de crescimento contendo 85-90% de efluente bruto de indústria de carpetes e 10-15% de efluente doméstico. Os autores obtiveram remoções de nitrogênio da mistura de efluentes maiores que 96%. Tango (2015) obteve a produção de 1,16 g de BMA seca, cultivada em efluente de indústria de beneficiamento de carnes tratado em sistema primário de tratamento de efluentes, o qual apresentava relação N/P de 15,8. Foram obtidas remoções de 86-100% e 33-100% de nitrogênio amoniacal e fósforo total, respectivamente.

O uso de efluentes brutos e de tratamentos primários e secundários no crescimento de microalgas, em contrapartida, provê dois benefícios significantes: meio de crescimento econômico e rico em nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio, e o tratamento refinado do efluente no final do processo (KUNJAPUR & ELDRIDGE, 2010). As opções convencionais (anaeróbias) de tratamento de efluentes não são eficientes na remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Nesse contexto, o crescimento de microalgas em efluentes brutos ou tratados por processos anaeróbios pode promover a remoção de nutrientes e produzir grandes quantidades de BMA ao final do processo. Isso mostra a grande possibilidade das microalgas serem comercializadas como tratamento terciário de efluentes (FAKIR *et al.*, 2011; MAHAPATRA *et al.*, 2014).

### 3.2.3 Aporte de Carbono

Já é sabido que as microalgas são capazes de assimilar CO<sub>2</sub> como fonte de carbono para seu crescimento e cerca de 1,6 a 2,0 Kg de CO<sub>2</sub> podem ser capturados por cada quilograma de BMA seca produzida (ZHENG *et al.*, 2012; MOAZAMI *et al.*, 2012). Apesar da promissora capacidade de fixação de CO<sub>2</sub> presente na atmosfera, o CO<sub>2</sub> atmosférico não é suficiente para suprir o requerimento de carbono para altas taxas de crescimento de biomassa. Um aporte de carbono adicional, como inserção de CO<sub>2</sub> (ou ar comprimido) ou bicarbonatos, é essencial para atingir boas taxas de crescimento quando o meio de cultivo não possui carbono orgânico suficiente para se atingir a proporção C<sub>106</sub>H<sub>181</sub>O<sub>45</sub>N<sub>16</sub>P requerida para o crescimento das microalgas

(SUALI & SARBATLY *et al.*, 2012; MUYLAERT *et al.*, 2015). Outra opção de aporte de carbono é o aproveitamento de gases de termelétricas, de processos de queima de carvão e demais processos de queima de combustíveis fósseis, os quais podem conter de 5 a 50% de CO<sub>2</sub> (CHANG & YANG, 2003; ZHENG *et al.*, 2012).

De acordo com Kunjapur & Eldridge (2010), excesso de CO<sub>2</sub>, contudo, pode ser um fator limitante para a fotossíntese e para o crescimento celular de microalgas. Segundo os autores, culturas de *Chlorella sp.* cultivadas em água doce e expostas a altas concentrações de CO<sub>2</sub> apresentam queda na taxa de crescimento, sendo as concentrações ótimas de crescimento de 1 a 5% de CO<sub>2</sub> em volume de ar dissolvido. Em contrapartida, Chang & Yang (2003) obtiveram produtividade de 0,22 g de massa seca de *Chlorella sp.* isoladas de efluente de suinocultura, por litro de meio BG-11, com aeração contendo de 20% de CO<sub>2</sub>. Yoo *et al.* (2010) obtiveram alta produtividade de *Scenedesmus sp.* aplicando-se ar dissolvido com 10% de CO<sub>2</sub>. Os autores obtiveram produção de 3,3 g/L dessa microalga em 14 dias de crescimento.

Sob condições heterotróficas ou mixotróficas, em contra partida, algumas espécies de microalgas podem metabolizar uma variedade de compostos orgânicos como fonte de carbono, incluindo açúcares e melão, ácido acético, bem como compostos presentes nos efluentes domésticos e industriais e no petróleo (KUMAR *et al.*, 2010).

### **3.2.4 Temperatura, Luminosidade e pH**

A temperatura de cultivo é um dos principais fatores que regulam as respostas celular, morfológica e fisiológica das microalgas. Altas temperaturas geralmente aceleram as taxas metabólicas das células microalgáceas, enquanto que baixas temperaturas tendem a inibir o crescimento. Sob uma temperatura ótima, que é diferente para cada espécie de microalga, as enzimas atingem sua maior atividade. Para a maioria das espécies de microalgas, a temperatura ótima de crescimento está na faixa de 25 a 35°C, com crescimento máximo atingido em 30°C (HANAGATA *et al.*, 1992; ZHENG *et al.*, 2012; KLOK *et al.*, 2013).

Embora haja alguns tipos de microalgas heterotróficas, as quais são capazes de obter energia através de compostos orgânicos como fonte de energia, a luz solar é a principal fonte de energia das microalgas. Apesar do baixo requerimento de intensidade luminosa para as células das microalgas em relação às plantas superiores, a taxa de atividade metabólica das microalgas usualmente aumenta com o aumento da intensidade luminosa até  $400 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . A intensidade de luz tem diferentes efeitos nas células microalgáceas, algumas espécies requerem mais ou menos energia luminosa para conduzir o processo de fotossíntese (ZHENG *et al.*, 2012; SUALI & SARBATLY *et al.*, 2012). Nesse aspecto, é preciso observar se as microalgas são cultivadas em meios de cultivo com alta turbidez, como efluentes de estação de esgoto doméstico, uma vez que o efeito de sombra, devido à turbidez do meio, impede que as microalgas consigam captar a luz necessária para o processo fotossintético, ou até mesmo impede a subida das células para a superfície para buscar a luz. Para solucionar esse problema, é preciso a adição de turbulência, uma vez que as células terão a chance de absorver a luz fornecida (FAKIR *et al.*, 2011; KLOK *et al.*, 2013).

O pH do meio de crescimento é um outro fator muito importante para o crescimento das microalgas, uma vez que afeta a viabilidade de carbono inorgânico no meio e pode afetar também a disponibilidade de fosfatos. No cultivo de microalgas, os valores de pH aumentam devido à assimilação de  $\text{CO}_2$ , e esse aumento pode causar a precipitação de íons importantes para a produção de BMA. O pH da cultura também pode afetar a química de compostos polares e a viabilidade de nutrientes como nitrogênio, ferro, ácidos orgânicos e até mesmo a disponibilidade de  $\text{CO}_2$  em forma assimilável pelas microalgas (KUNJAPUR & ELDRIDGE, 2010; SUTHERLAND *et al.*, 2015). A maioria das espécies são favorecidas em pH neutro, contudo, algumas espécies possuem pH ótimo de crescimento sob condições ácidas ou alcalinas, por exemplo, a *Spirulina platensis* e a *Chlorella littorale* possuem crescimento ótimo em níveis de pH de 9 e 4, respectivamente. A concentração de  $\text{CO}_2$  ou  $\text{CO}_3^{2-}$  possui forte impacto sobre os valores de pH em cultivos de microalgas. Em alguns casos, o pH é controlado ajustando-se as concentrações de  $\text{CO}_2$  do meio (WALKER *et al.*, 2005; ZHENG *et al.*, 2012).

### 3.2.5 Oxigênio Dissolvido

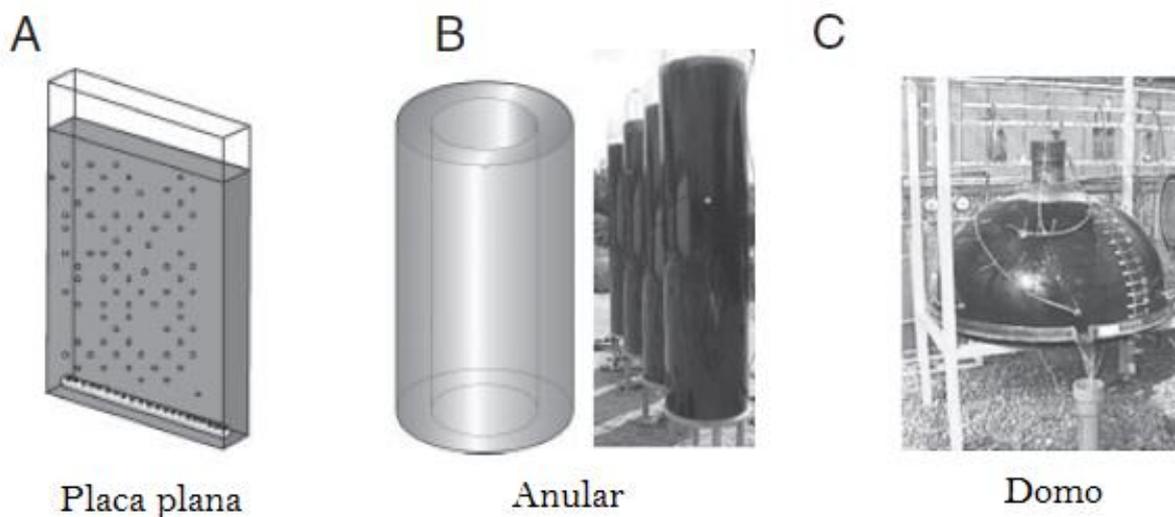
A concentração de oxigênio dissolvido (OD) é um dos principais fatores que controlam a produtividade das microalgas. Em cultivos de microalgas, principalmente alocado ao ar livre, existem variações de radiação solar e de temperatura ao longo do dia, chegando a maiores valores ao meio dia e, em consequência, atingindo concentrações elevadas de oxigênio dissolvido (70 a 80 g.m<sup>-3</sup>) devido à maior atividade fotossintética. Elevadas concentrações de oxigênio, em contrapartida, resulta na inibição do fotossistema 2, onde ocorre o transporte de energia para formação de ATP no processo de fotossíntese (UGWU *et al.*, 2007; KUNJAPUR & ELDRIDGE, 2010). Os níveis de OD em uma cultura podem ser manipulados para evitar a inibição fotossintética das microalgas, controlando-se a concentração e a taxa de dispersão de oxigênio no meio de cultura. A mistura, hidráulica ou mecânica, do meio de crescimento pode ser um parâmetro determinante nesse caso, uma vez que é capaz de facilitar a distribuição de calor, a homogeneização celular e facilitar a transferência de gases. Contudo, o nível de mistura deve ser otimizado cuidadosamente, uma vez que altos níveis de mistura podem provocar a morte das microalgas devido ao cisalhamento entre as células (MATA *et al.*, 2010; SUALI & SARBATLY *et al.*, 2012).

### 3.3 Produção de Biomassa Microalgácea

A produção de BMA é otimizada em fotobiorreatores (FBRs), equipamento que proporciona um ambiente controlado e alta produtividade, no qual os requisitos necessários para a produção de BMA são introduzidos no sistema de modo a facilitar o controle do ambiente de cultivo como o abastecimento de dióxido de carbono, abastecimento de água, a temperatura ideal, a exposição eficiente à luz, os níveis de pH, regime de mistura, etc. Os FBRs podem ser sistemas abertos (em contato com a atmosfera), fechados ou semiaberto e os principais arranjos consistem em tanques abertos, circulares e do tipo *raceway* (lagoas de alta taxa) e de sistemas fechados, normalmente reatores em colunas, domos e arranjos tubulares (POSTEN, 2009; PEREIRA *et al.*, 2012; VAN DER HULST, 2012).

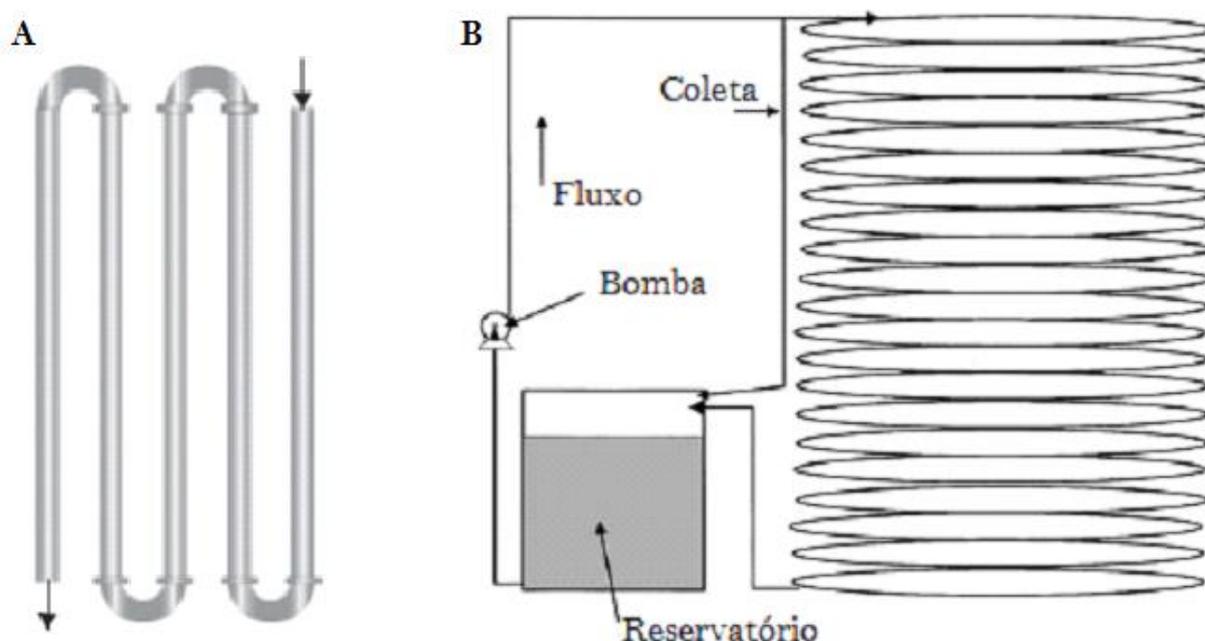
Os reatores em tanques abertos são os sistemas mais antigos e simples de cultivo de microalgas. Para produção em larga escala, os tanques são muito cogitados, uma vez que podem produzir grande quantidade de biomassa a um investimento aplicável (MOAZAMI *et al.*, 2012). As lagoas de alta taxa são os sistemas abertos mais aprimorados e utilizados atualmente para produção de microalgas em escala comercial. Essas lagoas possuem circuitos geralmente de 0,25 m de largura e 0,4 m de profundidade, através dos quais a água circula por meio de rodas de pedais. Apesar da configuração rasa para maximizar a penetração de luz, as lagoas requerem grande área superficial e apresentam alta vulnerabilidade à contaminação, quando comparadas aos FBRs fechados, o que as tornam muitas vezes inviáveis. O pH dessas lagoas deve ser mantido alcalino para que prováveis contaminações não ocorram, tornando a produção limitada a apenas algumas espécies de microalgas. Contudo, as lagoas de alta taxa não requerem resfriamento e não apresentam supersaturação de oxigênio (BAHADAR & KHAN, 2013).

FBRs fechados foram desenhados para superar as limitações dos sistemas abertos. Eles possuem alta eficiência de produção de biomassa e baixo risco de contaminação. Entretanto, podem ser mais custosos em termos de construção (UGWU *et al.*, 2008; BAHADAR & KHAN, 2013). Existem muitas configurações de reatores fechados, como tubulares, em placas planas paralelas, em domos, colunas, entre outros (**Figura 3**).



**Figura 3:** Configurações de FBR do tipo (A) placas planas paralelas (B) anular (C) em domo (adaptado de POSTEN, 2009).

Fotobiorreatores tubulares (**Figura 4**) são uns dos mais vantajosos tipos de cultura em larga escala. A maioria dos reatores tubulares são geralmente construídos de tubos plásticos ou de vidro, e a recirculação, para facilitar as trocas gasosas e a homogeneização da cultura pode ocorrer por bombeamento, sistemas de bolhas ou *air lift*. Esses FBRs são projetados em tubos geralmente de diâmetro igual ou menor que 0,2 m, em diversas configurações (paralelos, helicoidais, verticais, horizontais, etc.). Os tubos podem ser flexíveis ou rígidos, posicionados de maneira a otimizar a exposição à luz. A configuração helicoidal tem se apresentado como a mais vantajosa, uma vez que favorece a passagem de luz na maior parte do reator, e permite a circulação de ar para diminuir a temperatura (AMIN, 2009; BAHADAR & KHAN, 2013).



**Figura 4:** Esquema de fotobiorreator do tipo tubular em configuração (A) vertical (B) helicoidal (Adaptado de POSTEN (2009) e SCRAGG *et al.* (2002)).

Com relação aos reatores do tipo *air lift*, estes podem ser projetados com tubos acrílicos e atendem aos critérios de alta penetração de luz e produtividade, além de mínima contaminação e manutenção. Eles são, de maneira geral, formados por três partes: um tubo de aspiração (interno ou externo), um tubo externo e um duto de ar. De acordo com Bahadar & Khan (2013), eles conseguem atingir produtividade de 0,21 g/L/d, com velocidade superficial de 4 mm/s. Segundo os mesmos autores, os reatores de placas paralelas, por sua vez, são bastante efetivos para produção de microalgas.

Eles possuem design simples e alta relação área/volume para favorecimento da iluminação. A **Tabela 2**, a seguir, apresenta as principais vantagens e desvantagens dos fotobiorreatores mais utilizados na produção de BMA.

**Tabela 2:** Principais vantagens e desvantagens de diferentes configurações de fotobiorreatores (adaptado de UGWU *et al.* (2008), POSTEN (2009) e BAHADAR & KHAN (2013)).

Fotobiorreator	Vantagens	Desvantagens
Tubular	Eficiência do uso da energia luminosa e de controle de temperatura; alta taxa de produção de biomassa	Pode ocorrer formação de biofilmes e de gradientes de pH e de O <sub>2</sub> ao longo do tubo
Coluna	Alta taxa de produção de biomassa; baixo custo e fácil esterilização	Pequena área de iluminação; requer materiais resistentes para suporte; baixa relação área/volume
Air lift	Eficiência do uso da energia luminosa, de controle de temperatura e de transferência de gases; alta taxa de produção de biomassa	Design sofisticado; baixa relação área/volume
Placa plana	Eficiência do uso da energia luminosa e de transferência de gases; baixo custo; design simples	Pode dificultar controle de temperatura; requer materiais resistentes para suporte
Coluna de bolhas	Eficiência do uso da energia luminosa, de controle de temperatura e de transferência de gases	Baixa relação área/volume
Lagoa de alta taxa	Adequação à produção em larga escala; permite transferência de gases	Baixo controle de temperatura; vulnerabilidade de contaminações
Tanque	Adequação à produção em larga escala; permite transferência de gases	Baixa produtividade e controle de temperatura; vulnerabilidade de contaminações

## 3.4 Métodos de Recuperação de Biomassa

### 3.4.1 Separação Magnética

A separação magnética baseia-se na captura física de partículas, dotadas de carga elétrica, por meio de um campo magnético externo. A eficiência da separação depende de parâmetros como a concentração de partículas, do pH e da composição do meio de crescimento (CERFF *et al.*, 2012). A recuperação de microalgas, pode ser executada por meio de nanopartículas magnéticas que promovem um método economicamente promissor para a recuperação da biomassa, contudo, as quais precisam cumprir requerimentos específicos para manter alta eficiência de recuperação, como estabilidade química, capacidade adsorptiva e capacidade de

serem produzidas a baixo custo (XU *et al.*, 2011). Uma das desvantagens desse método é o alto custo de produção das nanopartículas e os equipamentos específicos necessários para promover o fracionamento entre as partículas e a BMA recuperada (WAN *et al.*, 2015).

Xu *et al.* (2011) obtiveram capacidades de remoção de 55,9 mg de BMA seca de *Botryococcus braunii* para cada miligrama de magnetita aplicada, com agitação de 120 rpm, durante 1 minuto. Eficiências de separação maiores que 90% foram encontradas no trabalho de Cerff *et al.* (2012) quando da aplicação máxima de 30 e 77 g de MagSílca para cada grama de biomassa de *Chlorella reinhardtii* e *Phaeodactylum tricornutum*, em pH 8 e 12, respectivamente. Em outro estudo, foram atingidas eficiências de remoção maiores que 95% em um separador magnético composto por um tambor de ímã, uma câmara de separação e um raspador, cuja vazão aplicada foi, em média, de 100 mL/min (HU *et al.*, 2014).

### 3.4.2 Separação Eletrolítica

A separação eletroquímica se divide em dois mecanismos, a eletrocoagulação e a eletrofloculação. A eletrocoagulação, baseia-se na neutralização das cargas das células microalgáceas por meio de transporte de íons (MISRA *et al.*, 2014). A eletrocoagulação envolve três etapas consecutivas: (1) geração de coagulantes por oxidação eletrolítica de um eletrodo de sacrifício, (2) desestabilização das células microalgáceas em suspensão, e (3) agregação das células desestabilizadas e formação de flocos que podem ser separados mais facilmente da fase líquida. Embora a eletrocoagulação seja uma técnica promissora para a recuperação de microalgas, Vandamme *et al.* (2011) afirmam que o consumo de energia pode ser relevante quando aplicada em grande escala. A depleção de eletrodos sacrificantes é outra desvantagem do método, ainda que este não necessite de adição de produtos químicos para neutralização das cargas. Diferente de eletrocoagulação, a eletrofloculação funciona com base no movimento de microalgas para o ânodo (eletrodo positivo), a fim de neutralizar a carga negativa resultante das células microalgácea para, em seguida, ocorrer a formação de flocos, que podem ser separados mais facilmente da fase líquida (MISRA *et al.*, 2014).

Eletrodos de alumínio, segundo Wan *et al.* (2015), exibem alta eficiência de recuperação de biomassa e requerem baixo requerimento energético (0,3 a 2 KWh/Kg). Entretanto, o custo da troca dos eletrodos e a contaminação pelo uso de eletrodos de alumínio são os maiores problemas para o uso prático dessa metodologia. Uduman *et al.* (2011) atingiram eficiências de separação maiores que 98% otimizando-se a voltagem e o tempo de execução. Essa metodologia também foi eficaz utilizando-se anodos de alumínio em amostras de *Chlorella sp.*, em escala de bancada (VANDAMME *et al.*, 2011).

Devido ao fenômeno de depleção, que resulta na troca constante de eletrodos, alguns autores já avaliaram o uso de materiais não-sacrificantes, como o carbono. Misra *et al.* (2014) atingiram até 94,52% de eficiência de remoção de *Chorella sorokiniana*, utilizando-se eletrodos de carbono e adicionando-se o eletrólito cloreto de sódio para otimização eletrolítica.

Alternativamente, recuperar BMA via eletrofloculação parece ser mais factível e mais custo-efetiva em termos de escala comercial que a separação eletromagnética. As células microalgáceas tendem a migrar para o anodo e perder carga, o que permite a formação de agregados celulares (flocos). As bolhas produzidas no anodo, ainda, sobem para a superfície sendo capturadas pelos agregados celulares, o que permite que esses flocos sejam varridos facilmente para a superfície (WAN *et al.*, 2015).

### 3.4.3 Separação por Membrana

Diversas tecnologias baseadas em separação por membrana têm sido avaliadas para a recuperação de BMA. Apesar da extensa diversidade de modelos propostos, a separação por membrana pode ser classificada mais simploriamente pelo tamanho dos poros da membrana ou do meio filtrante utilizados: macrofiltração ou filtração, microfiltração, ultrafiltração e osmose reversa, cujos diâmetros dos poros correspondem a >10 µm, 0,1-10 µm, 0,02-0,2 µm e <0,001 µm, respectivamente (MILLEGE e HEAVEN, 2013).

A filtração é uma metodologia simples e de baixo custo efetivo para a recuperação de microalgas, e pode ser realizada em pequenas e grandes escalas. Contudo, esse método é apenas vantajoso para microalgas de grande tamanho, como as do gênero *Spirulina*, e não é eficiente para separar microalgas com pequenos tamanhos, como as do gênero *Scenedesmus*, *Dunaliella* e *Chorella* (FAKIR *et al.*, 2011). A microfiltração e a ultrafiltração vêm sendo amplamente utilizadas em estudos de recuperação de células microalgáceas, embora estas ainda não sejam promissoras para produção em larga escala, podendo ser muito desfavoráveis economicamente quando comparadas ao processo de centrifugação (GRIMA *et al.*, 2003). À medida em que as tecnologias de manufatura se desenvolvem, o custo das membranas e seus sistemas podem surgir como uma opção bastante interessante para a recuperação de BMA. Mais importante ainda, a filtração por membrana pode atingir remoção completa de algas do meio de cultura (ZHANG *et al.*, 2010).

Membranas de polímeros inorgânicos são as mais cogitadas nos estudos de filtração e concentração de microalgas, estas exibem estabilidade química e térmica, resistência mecânica, alta permeabilidade e baixo custo. Zhang *et al.* (2010) avaliaram o uso de membrana de ultrafiltração na separação de microalgas e a cultura foi concentrada em 150 vezes, resultando na recuperação de 154,85 g/L de biomassa. O trabalho de Sun *et al.* (2013) avaliaram a recuperação de *Chorella sp.*, em seis diferentes membranas comerciais, com relação à influência de fatores como temperatura do meio de crescimento e velocidade do fluxo. Neste estudo, concluiu-se que o fluxo do permeado aumenta quando do aumento da temperatura e da velocidade de fluxo.

A eficiência da separação por membrana é, contudo, extremamente afetada pelo fenômeno de *fouling*: a acumulação de células na superfície da membrana ou nos seus poros causa o declínio do fluxo do permeado. Muitos esforços têm sido realizados para entender e reduzir esse fenômeno, incluindo a modificação das membranas e o desenvolvimento de novos materiais, ainda que poucos trabalhos têm sido desenvolvidos descrevendo o fenômeno e as soluções no processo de separação de microalgas (ZHANG *et al.*, 2010; SUN *et al.*, 2013).

### 3.4.4 Deposição gravimétrica ou sedimentação

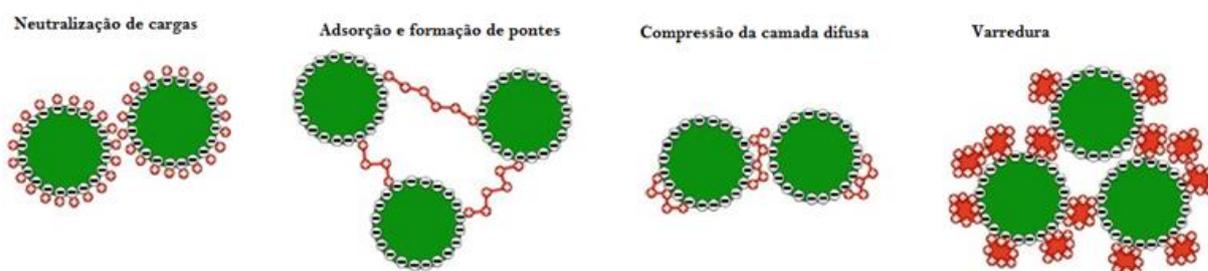
O mecanismo de deposição gravimétrica, ou sedimentação, que é a separação de uma suspensão diluída pela sedimentação gravitacional, é comumente aplicado na separação de microalgas em estações de tratamento de efluente e, se bem projetada e otimizada, apresenta-se como um dos mecanismos mais profícuo para a recuperação de BMA. Características como densidade e diâmetro das células de microalgas e a velocidade de sedimentação das mesmas influenciam diretamente na eficácia e eficiência de deposição das células suspensas (CHEN *et al.*, 2011).

A despeito da recuperação de microalgas por sedimentação poder ser atingida com separadores lamelares e tanques de decantação, de acordo com Uduman *et al.* (2010), células de baixa densidade, como as das microalgas, não conseguem atingir boa eficiência de separação apenas por deposição gravimétrica. A floculação, contudo, é umas das maneiras mais utilizadas de se otimizar o tempo de sedimentação de microalgas, uma vez que aumenta a densidade dos flocos, a qual é influencia diretamente na velocidade de deposição (FAKIR *et al.*, 2011; GRANADOS *et al.*, 2012).

### 3.4.5 Coagulação-Floculação

O processo de coagulação-floculação é um dos mais convenientes métodos para a recuperação de microalgas. É uma técnica de duplo estágio, em que as células microalgáceas em suspensão são agregadas para formar flocos, a fim de facilitar a sedimentação ou a flotação dos flocos formados. Coagulação e floculação, desta maneira, ocorrem em estágios sucessivos de modo a ultrapassar as forças de estabilização das células suspensas, permitindo a colisão entre elas e promover o crescimento de flocos. A coagulação consiste na neutralização das células microalgáceas, enquanto a floculação fundamenta-se na agregação nas células neutralizadas por meio da colisão dos agregados, dando origem à formação dor flocos (CHEN *et al.*, 2011; WAN *et al.*, 2015; GERDE *et al.*, 2014; GUTIÉRREZ *et al.*, 2015).

De modo geral pode-se dividir os mecanismos de coagulação em: adsorção e neutralização de cargas, compressão da camada difusa, varredura e formação de pontes, como representado na **Figura 5**: Ilustração esquemática dos quatro mecanismos de coagulação. Os círculos com o sinal “-” indicam as cargas negativas da superfície celular e os círculos vermelhos com os sinais “+” indicam as cargas positivas dos coagulantes (MUYLEAERT *et al.*, 2015). Uma descrição mais detalhada destes mecanismos é realizada por Richter (2009) e Muylaert *et al.* (2015). Pode-se considerar o primeiro mecanismo como a adsorção do coagulante e precipitados, carregados positivamente, na superfície das células microalgáceas. Este mecanismo reduz a repulsão entre as partículas, possibilitando sua coagulação. O segundo mecanismo ocorre devido à presença de grande quantidade de coagulante que são atraídos para as proximidades da superfície das microalgas, fazendo com que haja a compressão da dupla camada de cargas formada na superfície das partículas. Desta forma haverá menor repulsão entre as células microalgáceas, permitindo a sua coagulação.



**Figura 5:** Ilustração esquemática dos quatro mecanismos de coagulação. Os círculos com o sinal “-” indicam as cargas negativas da superfície celular e os círculos vermelhos com os sinais “+” indicam as cargas positivas dos coagulantes (MUYLEAERT *et al.*, 2015).

No mecanismo de varredura, o coagulante forma um precipitado que enreda as células de microalgas, as quais, em seguida, irão assentar ou flocular juntamente com o precipitado formado. O precipitado frequentemente funciona como um lastro que facilita a sedimentação das células. Neste mecanismo de coagulação, a dose do coagulante é muitas vezes independente da concentração das células. Flocos formados por mecanismo de varredura são muitas vezes mais estáveis que os flocos formados por neutralização de carga (DUAN & GREGORY, 2003; MUYLEAERT *et al.*, 2015; ROSELET *et al.*, 2015).

O mecanismo de formação de pontes, é típico para sistemas de coagulação-floculação nos quais são adicionados compostos orgânicos de cadeia longa (polímeros). As interações entre os sítios ativos das macromoléculas poliméricas e as células microalgáceas promovem o mecanismo de coagulação e floculação. Polímeros também podem promover a compressão da camada difusa. Para a formação de pontes ocorrer, os polímeros devem ser suficientemente longos para formar as pontes entre as células de microalgas. O comprimento da cadeia polimérica pode ser significativamente reduzido pelo enrolamento das cadeias, e isso ocorre mais quando o meio tem alta condutividade (MUYLAERT *et al.*, 2015; ROSELET *et al.*, 2015).

Flocos formados por pontes são mais largos e estáveis que os flocos formados nos demais mecanismos de coagulação. Quando uma dose alta de polímero é usada, entretanto, a suspensão celular é novamente estabilizada, impedindo a formação de flocos. Isso pode ocorrer devido à inversão da carga superficial celular de negativa para positiva, mas pode ser também devido ao impedimento estérico causado pelas cadeias poliméricas associadas com a superfície celular, ou seja, causando uma tensão provocada pela interação repulsiva quando átomos se aproxima muito um do outro (VANDAMME *et al.*, 2013; MUYLAERT *et al.*, 2015).

A ocorrência do fenômeno de coagulação-floculação, todavia, depende das condições de cultivo, como a presença de matéria orgânica, pH, alcalinidade, cor, turbidez, temperatura e condutividade elétrica. Outro fator importante para a ocorrência do processo de coagulação-floculação é a dependência de algumas propriedades da superfície das microalgas e do tamanho de suas células, e esses diferem entre espécies. Considerando a produção de um mesmo volume de biomassa, quanto menor o tamanho das células, maior a área superficial negativa disponível, acarretando o requerimento de maior volume de coagulante. O sucesso da floculação de microalgas também depende da produção extracelular de substâncias poliméricas, da mistura (mecânica ou hidráulica) homogênea, do coagulante das mudanças no meio de crescimento, que pode acarretar em mudanças na composição das células e da presença de matéria orgânica no meio de cultivo (LEE *et al.*, 2010; ZHOU *et al.*, 2012; VANDAMME *et al.*, 2013). A concentração de matéria orgânica presente em

uma cultura de microalgas varia de 10 a 100 mg de carbono por litro, dependendo da espécie e das condições de cultivo. Essa matéria orgânica consiste principalmente em polissacarídeos e proteínas proveniente das excreções das células microalgáceas e de possíveis impurezas presentes no meio de cultivo, como ácidos húmicos. A maioria da demanda química requerida pela floculação pode ser devido à matéria orgânica microalgácea presente no meio do que a quantidade de biomassa e das impurezas presentes no cultivo (VANDAMME *et al.*, 2012; GARCÍA-PEREZ *et al.*, 2014; MUYLAERT *et al.*, 2015).

Para que a BMA recuperada e a qualidade do efluente gerado não sejam afetados pelo uso de compostos químicos, a seleção do coagulante é crucial. Há décadas, sais metálicos e polímeros sintéticos são predominantemente utilizados do processo de coagulação, contudo, muitos estudos já foram conduzidos a fim de avaliar o uso de coagulantes naturais na recuperação de microalgas (AHMAD *et al.*, 2011; VANDAMME *et al.*, 2013).

A recuperação de BMA cultivada em lagoa de polimento com os flocculantes cloreto férrico e sulfato de alumínio foi avaliada em estudo conduzido por Ferrari (2004). Eficiências de remoção maiores que 80% e 90% foram atingidas com a utilização de cloreto férrico e sulfato de alumínio, respectivamente, em pH neutro. Gerde *et al.* (2014) estudaram a recuperação de *S. limacinum*, *C. reinhardtii* e *Scenedesmus spp.* cultivadas água do mar artificial, em pH neutro, com dosagens de sulfato de alumínio da ordem de 200 ppm. Os autores obtiveram altas eficiências de remoção, as quais foram maiores que 90% para todas as culturas avaliadas.

Sais metálicos inorgânicos e polímeros orgânicos sintéticos, como os sais de alumínio e ferro e as poliamidas, respectivamente, em razão das suas efetividades e baixo custo já comprovados, são os mais utilizados nessa técnica. Entretanto, coagulantes metálicos e sintéticos devem ser usados em altas doses, resultando na contaminação de lipídeos e carboidratos, impossibilitando a produção de biocombustíveis (AHMAD *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2012; VANDAMME *et al.*, 2013; GERDE *et al.*, 2014).

A **Tabela 3** apresenta doses e faixas de pH que promovem a coagulação de microalgas para diferentes coagulantes.

**Tabela 3:** Doses e faixas de pH que promovem a coagulação de microalgas para diferentes coagulantes (UDUMAN *et al.*, 2010).

Tipo de coagulante	Coagulante	Dose (mg/L)	pH
Inorgânico	Sulfato de Alumínio	80 - 250	5,3 - 5,6
	Sulfato ferroso	50 - 90	3,0 - 9,0
Polímero	Purifloc	35	3,5
	Zetag 51	10	> 9
	Dow 21M	10	4 - 7
	Dow C-31	1 - 5	2 - 4

Em virtude da variedade de complicações que o uso de sais metálicos e polímeros sintéticos pode causar na recuperação de BMA para produção de biocombustíveis, diversos polímeros naturais têm sido estudados, a título de exemplo a quitina, a semente de *Moringa oleifera*, amidos modificados, mucilagem de quiabo e polissacarídeos produzidos por microrganismos como fungos e bactérias (AHMAD *et al.*, 2011). Para ser possível, entretanto, a interação dos polímeros naturais com a superfície negativa das microalgas, esses devem ser dotados de carga positiva, o que é raro na natureza. Exemplo de polímero naturalmente catiônico é o ácido  $\gamma$ -poliglutâmico, produzido pelo *Bacillus subtilis* (ZHENG *et al.*, 2012; RAKESH *et al.*, 2014).

Polímeros não catiônicos, porém, podem ser modificados com grupos catiônicos para melhorar a eficiência de floculação, como a quitosana, a qual é obtida pela desacetilação alcalina da quitina, que é encontrada no exoesqueleto de crustáceos, na parede celular de fungos e em outros materiais biológicos. As condições dessa reação conferem à quitosana suas características principais, como o peso molecular médio e é positivamente carregada em baixo pH. Os grupos amino presentes nas cadeias poliméricas permitem que a quitosana atue como polieletrólito catiônico em  $\text{pH} < 6,5$  e apresente uma alta densidade de cargas, que se adsorvem facilmente nas células carregadas negativamente (KIMURA, 2001).

Estudo recente investigou a recuperação de *Chlorella sp.* cultivada em meio sintético, com o uso da quitosana. Os autores conseguiram alcançar, com dosagens de apenas 10 mg/L, eficiência de remoção de aproximadamente 99% (AHMAD *et al.*, 2011). Eficiências maiores que 90% também foram atingidas em estudo conduzido por Gupta *et al.* (2014). Para isso, os autores aplicaram dosagens de 80 mg/L de

quitosana em culturas de *Scenedesmus sp.*, em meio sintético e pH neutro. Outros estudos recentes obtiveram a mesma faixa de eficiência de remoção de *Chlorella sp.*, aplicando-se dosagem de quitosana de apenas 20 mg/L, embora tenham adicionado 20 mg/L de saponina para auxiliar na coleta da biomassa em superfície (KURNIAWATI *et al.*, 2014).

Apesar de os coagulantes orgânicos serem biodegradáveis e agredirem menos o meio ambiente, a aplicação de alguns coagulantes químicos como a quitosana para a recuperação de microalgas é restritiva devido à dependência do pH do meio (WAN *et al.*, 2015). Amidos que são modificados por adição de grupos quaternários de amônio, de caráter catiônico, também são efetivos na floculação de microalgas e podem ser usados como uma alternativa interessante, uma vez que as cargas positivas dos grupos quaternários de amônio são menos sensíveis ao pH, permitindo que o amido catiônico opere em uma faixa de pH maior (MUYLAERT *et al.*, 2015). Os amidos catiônicos são considerados excelentes alternativas, são pouco tóxicos quando comparados aos polímeros orgânicos sintéticos, como a poliácridamida. Amidos modificados catiônicos e outros biopolímeros são razoavelmente baratos em relação a outros floculantes, como a quitosana, mas ainda podem ser muito custosos em aplicações de larga escala (VANDAMME *et al.*, 2013; GERDE *et al.*, 2014).

A eficiência de remoção de *Scenedesmus spp.* foi avaliada em estudos conduzidos utilizando-se amido catiônico como coagulante. Os autores aplicaram 42 mg/L de amido, em meio sintético com pH 8,5, e obtiveram eficiências de remoção maiores que 90% (GERDE *et al.*, 2014). Outra pesquisa recente avaliou a remoção de *Chlorella sp.* e algumas espécies de microalgas marinhas, cultivadas e meio comercial de pH na faixa de 10 a 11, com amidos modificados. Ainda que os autores tenham utilizado dosagem elevadas, entre 120 e 150 mg/L, para diferentes tipos de amido (milho, mandioca, tapioca e batata), as eficiências de remoção baixas, compreendidas na faixa de 70 a, aproximadamente, 90% (RAKESH *et al.*, 2014).

A modificação de taninos também está sendo recentemente estudada para a produção de coagulantes naturais com melhores eficiências de recuperação de BMA. Taninos são metabólicos secundários de plantas superiores que podem ser retirados da casca ou da madeira de árvores de gêneros como *Acacia*, *Castanea* e *Schinopsis*.

Os taninos são modificados por aldeídos, aminas ou outros reagentes catiônicos, entretanto, a maioria dos métodos de modificação são patenteados (WANG *et al.*, 2013; MEZZARI *et al.*, 2014).

Reações de floculação com polímero catiônico à base de taninos ocorrem via formação de pontes entre o polímero e a superfície das microalgas em mais de um sítio, juntando-as umas com as outras, e com as moléculas poliméricas, em uma matriz tridimensional. O pH do meio é um fator importante na densidade de carga da superfície das células das microalgas, alterando, assim, a eficiência da coagulação. Apesar da coagulação com taninos ser muito efetiva em uma ampla faixa de pH (4,8 a 8,0), a resposta da coagulação também depende de como foram feitas as modificações químicas do tanino (MEZZARI *et al.*, 2014). Wang *et al.* (2013) estudaram a floculação da microalga *Microcystis aeruginosa* utilizando tanino modificado. Os resultados mostraram que mais de 90% de eficiência eram obtidos utilizando-se dosagens de 0,5 a 20 mg/L.

*Moringa oleífera* é uma das 14 espécies de plantas tropicais na família Moringaceae e vem ultimamente se destacando também como uma alternativa natural para a coagulação de microalgas. Todas elas possuem propriedades coagulantes. A espécie *Moringa oleífera* ocorre abundantemente na Ásia, África e América e estudos sugerem que os componentes ativos das sementes de *M. oleífera*, que possuem propriedades coagulantes, são peptídeos com peso molecular de 6 a 20 KDa, com um pH entre 9 e 10 (TEIXEIRA *et al.*, 2012; HAMID *et al.*, 2014).

As propriedades coagulantes de *M. oleífera* já estão comprovadas, mas os mecanismos de reação que permitem a atividade coagulante ainda não foram totalmente compreendidos (HAMID *et al.*, 2014). A **Tabela 4** apresenta diferentes atividades coagulantes de cultura de *Chlorella sp.* utilizando diferentes derivados da semente de *M. oleífera*.

**Tabela 4:** Atividades coagulantes de cultura de *Chlorella sp* utilizando diferentes derivados da semente de *M. oleífera* (Fonte: modificado de HAMID *et al.*, 2014).

Derivados de <i>M. oleífera</i>	Coagulante	Atividade coagulante	Eficiência de coagulação
<b>Primários</b>	Casca da semente	Não	< 10%
	Pó da semente	Sim	> 97% ± 5%
<b>Secundário</b>	Óleo da semente	Não	< 5%
<b>Terciário</b>	Proteína em pó	Sim	> 78% ± 4%

Estudo conduzido com microalgas cultivadas em fotobiorreator semi-contínuo, em escala piloto, sob luz natural, com efluente de digestor anaeróbio como a fonte de alimentação, avaliou a eficiência de recuperação das microalgas utilizando *Moringa oleífera* como coagulante. A suspensão microalgácea, de pH < 6, foi recuperada com dosagem ótima coagulante de 4,67 mg/L. Os autores alcançaram eficiência de recuperação de 85% (UDOM *et al.*, 2013).

A crescente preocupação com questões ambientais, levanta pesquisas sobre polímeros naturais, uma vez que eles são de baixo custo, são uma fonte abundante, altamente biodegradável, de baixa toxicidade, geralmente têm um grande número de cargas de superfície, o que aumenta a eficiência da coagulação. A utilização de polímeros naturais pode reduzir os custos do processo de recuperação, uma vez que esses polímeros podem ser obtidos e processados localmente. Portanto, oferecem um grande potencial para o desenvolvimento de polímeros alternativos (FREITAS *et al.*, 2015).

Goma de quiabo é um polissacarídeo natural composto de D-galactose, L-ramnose e ácido L-galacturônico. Os polissacarídeos da goma de quiabo são solúveis em água e são capazes de desestabilizar suspensões coloidais e, assim, são capazes de flocular partículas pequenas, como as células microalgáceas (AGARWAL *et al.*, 2001; ANASTASAKIS *et al.*, 2009; FREITAS *et al.*, 2015). Ainda assim, a goma de quiabo vem sendo utilizada para a remoção de turbidez de efluentes domésticos e industriais e de águas para abastecimento público (FAROOQ *et al.*, 2013). Estudo de Agarwal *et al.* (2001) avaliou a eficiência da coagulação da goma de quiabo na dose de 0,126 mg/L, variando o tempo de contato em diferentes pH. A partir do estudo, foi possível notar que o pH na faixa neutra a ácida é mais adequado para a remoção de sólidos

de efluente doméstico. Em pH neutro, 84,63 % e, em pH ácido, 86,86 % de remoção de sólidos foram alcançadas, contudo, após um e cinco horas de repouso, respectivamente (AGARWAL *et al.*, 2001).

O fato de a coagulação de BMA ser particularmente sensível ao pH do meio e o fato de as células das microalgas serem capazes de formar suspensões estáveis devido à carga superficial negativa, têm tornado possível a coagulação de microalgas via mudanças de pH, uma vez que a mudança da relação  $H^+/OH^-$  e os íons  $Mg^{2+}$  presentes no meio de cultivo podem romper as interações eletrostáticas entre as células negativamente carregadas. (CASTRILLO *et al.*, 2013; WAN *et al.*, 2015). Estudos sugerem que a floculação de microalgas, induzida pelo aumento do pH, é causada pela precipitação química de sais de cálcio ou magnésio, em elevado pH, mas ainda não são sabidos certamente os mecanismos pelos quais o processo ocorre. De fato, pesquisas mostraram que a floculação não ocorre em águas com baixas concentrações de cálcio e magnésio, mas, ao se adicionar cal às mesmas o fenômeno de floculação era percebido (VANDAMME *et al.*, 2012). A floculação induzida por elevação de pH pode ser uma alternativa interessante, devido ao baixo custo operacional e baixo consumo de energia. Ademais, o processo demonstra não-toxicidade às células e o meio de crescimento pode ser reaproveitado, por não apresentar residual de produtos coagulantes.

A floculação induzida por aumento de pH em culturas de microalgas de água doce pode ocorrer com a adição de NaOH. Estudo de Wu *et al.* (2012) demonstrou que, à medida em que o pH atingiu valores próximos a 10,6, com adição de NaOH, a eficiência de recuperação maior que 90% foi atingida. Nesse estudo também foi observada a formação do precipitado hidróxido de magnésio ( $Mg(OH)_2$ ), corroborando com o trabalho de Vandamme *et al.* (2012). Estudo de Castrillo *et al.* (2013), por sua vez, apresentou melhores eficiências na floculação induzida por NaOH e  $Ca(OH)_2$ , em culturas de *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*, elevando-se o pH em valores maiores que 10, embora observada a diminuição da eficiência em pH acima de 11 em culturas de *C. vulgaris*. A **Tabela 5** apresenta a eficiência de coagulação de diferentes microalgas induzida pelo pH.

**Tabela 5:** Flocculação de diferentes microalgas induzida por pH (GONZÁLEZ-FERNANDEZ, 2013).

Microalga	pH	Eficiência de recuperação	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i>	10,5	90 %	Wu et al. (2012)
<i>Scenedesmus sp.</i>	10,5	90 %	Wu et al. (2012)
<i>Chlorococcum sp.</i>	10,5	90 %	Wu et al. (2012)
<i>Phaedactylum tricornutum</i>	9,0 – 9,3	90 %	Wu et al. (2012)
<i>Dunialdella tertiolecta</i>	8,6	96 %	Horiuchi et al. (2003)
<i>Dunialdella tertiolecta</i>	9,5	92 %	Horiuchi et al. (2003)

A bioflocculação, processo de flocculação induzido por microrganismos, substâncias de polímeros extracelulares, ou agentes flocculantes produzidos por microrganismos (bioflocculantes) tem sido também amplamente utilizada recuperação de microalgas. Estudo conduzido por Oh *et al.* (2001) demonstrou que a bactéria *Paeibacillus sp.*, adicionada à cultura de *Chlorella vulgaris*, foi eficiente da formação de flocos, em pH na faixa de 5 a 11. A eficiência de remoção da microalga neste estudo chegou a 83%, a qual foi maior que as eficiências de 72% e 78% obtidas com o uso de sulfato de alumínio e poliácridamida, respectivamente. A bioflocculação, com bactérias e fungos, se apresentam como alternativas interessantes para a recuperação de biomassa visando-se a produção de biocombustíveis. Todavia, o uso desses microrganismos requer adição extra de substrato e fonte de energia para o crescimento no meio de cultivo microalgáceo, o que geralmente promove contaminações indesejadas (ZHOU *et al.*, 2012).

Autoflocculação, fenômeno que se refere à adesão e agregação de células microalgáceas umas nas outras, também tem sido observada como uma alternativa muito atraente para a recuperação das microalgas. Poucas espécies de microalgas com as quais ocorre o fenômeno de autoflocculação, porém, já foram descobertas: *C. vulgaris*, *S. obliquus* AS-6-1, *Ankistridesmus falcatus* (SAG202-9) e *E. texensis* (SAG79.80). As melhores vantagens desse método para a recuperação de BMA é de não haver necessidade de adição de produtos químicos, de ser custo-efetivo e pode ser considerado livre de contaminações, além de ser ambientalmente amigável. Entretanto estudos propuseram que a autoflocculação com microalgas pode acontecer quando agentes de flocculação (e.g., polissacarídeos e glicoproteínas) produzidos pelas próprias microalgas aderem as células adjacentes ou formam pontes entre as células via neutralização de cargas, promovendo a autoflocculação (WAN *et al.*, 2015).

### 3.4.6 Flotação

Flotação é um processo de separação gravitacional em que o ar ou bolhas de gases se aderem à superfície das células suspensas e então as carregam para a superfície do líquido, ainda que algumas espécies tenham a capacidade de flotar naturalmente em seu meio de crescimento. O mecanismo de flotação apresenta algumas vantagens comparado com outras metodologias para a remoção de BMA, tais como rápido tempo de recuperação, flexibilidade operacional e captura de células com diâmetros menores que 500  $\mu\text{m}$ . (CHEN *et al.*, 2011; KURNIAWATI *et al.*, 2014).

O mecanismo de flotação, baseando-se no tamanho da bolha produzida, diferencia-se em três técnicas: flotação eletrolítica (FE), flotação por ar dissolvido (FAD) e flotação por ar disperso (FADI), sendo a faixa do diâmetro das bolhas produzidas pelas duas últimas técnicas de 10-100  $\mu\text{m}$  e 700-1500  $\mu\text{m}$ , nessa ordem (CHEN *et al.*, 2011). Milledge & Haven (2013) afirmam que os mecanismos de flotação por ar dissolvido e disperso, auxiliados por floculação, apresentam alta eficiência na remoção de microalgas e eficiências elevadas podem ser atingidas com aspersores aplicando pressão de 3 atmosferas, embora apresente intensivo consumo energético. O mecanismo de flotação eletrolítica, vêm se mostrando efetivo na remoção de microalgas apenas em escalas de bancada, mesmo apresentando baixo consumo energético, comparado aos mecanismos anteriormente comentados (UDUMAN *et al.*, 2010).

Com o intuito de facilitar e otimizar o mecanismo de flotação, vários auxiliares têm sido aplicados no processo de flotação, dentre os quais os floculantes e os escumadores, capazes de aumentar a área superficial de colisão e facilitar a coleta em superfície, respectivamente (CHEN *et al.*, 2011, KURNIAWATI *et al.*, 2014). Experimentos utilizando-se FAD foram conduzidos por Wang *et al.* (2013), nos quais saponina foi adicionada para a otimização da coleta de microalgas na superfície na coluna de flotação, cujo diâmetro era de 5 cm e altura de aproximadamente 50 cm.

Kurniawati *et al.* (2014), por sua vez, testaram saponina e quitosana como escumante e coagulante, respectivamente, na recuperação da biomassa de culturas de *Chlorella*

*vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*. Nesse estudo, os autores atingiram eficiências de remoção maiores que 93%, com dosagens de 5 mg/L de quitosana e 20 mg/L de saponina.

### 3.4.7 Centrifugação

Na recuperação de microalgas pelo método de centrifugação, a força motriz de que age sob as células microalgáceas é muito maior que a força da gravidade que atua sobre essas células postas em repouso para promover uma sedimentação natural. Em centrífugas de pilha de disco, a força de separação pode ser até 14.000 vezes maior que a força gravitacional, reduzindo consideravelmente o tempo de sedimentação (MILLEDGE & HEAVEN, 2013), embora a exposição de biomassa a grandes forças gravitacionais pode causar a ruptura das células (FAKIR *et al.*, 2011).

A eficiência de recuperação de biomassa por centrifugação depende das características das células, do tempo de sedimentação, e da altura de sedimentação e apenas algumas centrífugas industriais, em plantas de produção de biodiesel, foram testadas para concentração de microalgas em larga escala (GRIMA *et al.*, 2003).

Heasman *et al.* (2000) avaliaram a recuperação de microalgas em diferentes condições de centrifugação, sendo a melhor eficiência de recuperação, 95%, foi obtida aplicando-se uma força de 13.000 vezes a força da gravidade.

A centrifugação, de acordo com Castrillo *et al.* (2013), é o método mais rápido e confiável na recuperação de microalgas. Entretanto, sua aplicação em pequenas escalas se torna custoso, pois o custo de investimento é muito alto e demanda grande consumo de energia, podendo chegar a 13,8 MJ por quilograma de biomassa seca, o que representa 55% do potencial energético teórico que a BMA pode gerar (VANDAMME *et al.*, 2012; WAN *et al.*, 2015; MUYLAERT *et al.*, 2015).

### 3.4.8 Visão Geral

Tecnologias comercialmente disponíveis para a recuperação de microalgas são baseadas em processos mecânicos, elétricos, químicos ou biológicos. A avaliação desses métodos tem mostrado que o processo de coagulação-floculação, combinado com sedimentação ou flotação, é um dos métodos mais promissores para uma alternativa eficiente, operacionalmente simples, de baixo custo e pouco consumo energético (WANG *et al.*, 2013; RAKESH *et al.*, 2014). A **Tabela 6** apresenta um resumo da performance de diferentes métodos de recuperação de BMA em relação à eficiência de remoção de sólidos suspensos totais e de requerimento energético.

**Tabela 6:** Eficiências de recuperação de BMA por diferentes métodos de recuperação (UDUMAN *et al.*, 2010).

Método	Eficiência de remoção	Requerimento energético
Floculação	>22 %	Baixo (N/A)
Centrifugação	> 12%	Alto (8 KWh/m <sup>3</sup> )
Deposição gravimétrica	0,5 – 1,5 %	Baixo (0,1 KWh/m <sup>3</sup> )
Filtração a pressão	1 – 6 %	Moderado (0,88 KWh/m <sup>3</sup> )
Filtração natural	6% - 27 %	Baixo (0,4 KWh/m <sup>3</sup> )
Eletrocoagulação	95 – 99,5 %	Moderado (0,8-1,5 KWh/m <sup>3</sup> )
Eletroflotação	3 – 5 %	Alto (N/A)

Sais inorgânicos e polímeros à base de poliácridamidas ainda são muito utilizados para a recuperação de microalgas, contudo, essas substâncias podem gerar resíduos potencialmente tóxicos, contaminando a biomassa recuperada. Coagulantes poliméricos naturais são atrativos, uma vez que geralmente requerem menores doses para obtenção de alta eficiência de recuperação e produzem flocos mais estáveis e com menores chances de geração de resíduos com potenciais tóxicos. No processo de coagulação-floculação, o coagulante acaba sendo coletado junto com a biomassa recuperada, o que pode trazer consequências na valorização da biomassa e no meio ambiente. Por isso, a contaminação da biomassa é um fator importante a se considerar se considerar o uso da floculação como método de recuperação de BMA (MUYLAERT *et al.*, 2015). De maneira geral, coagulantes naturais são os mais indicados para a recuperação sustentável de BMA. (GRANADOS *et al.*, 2012).

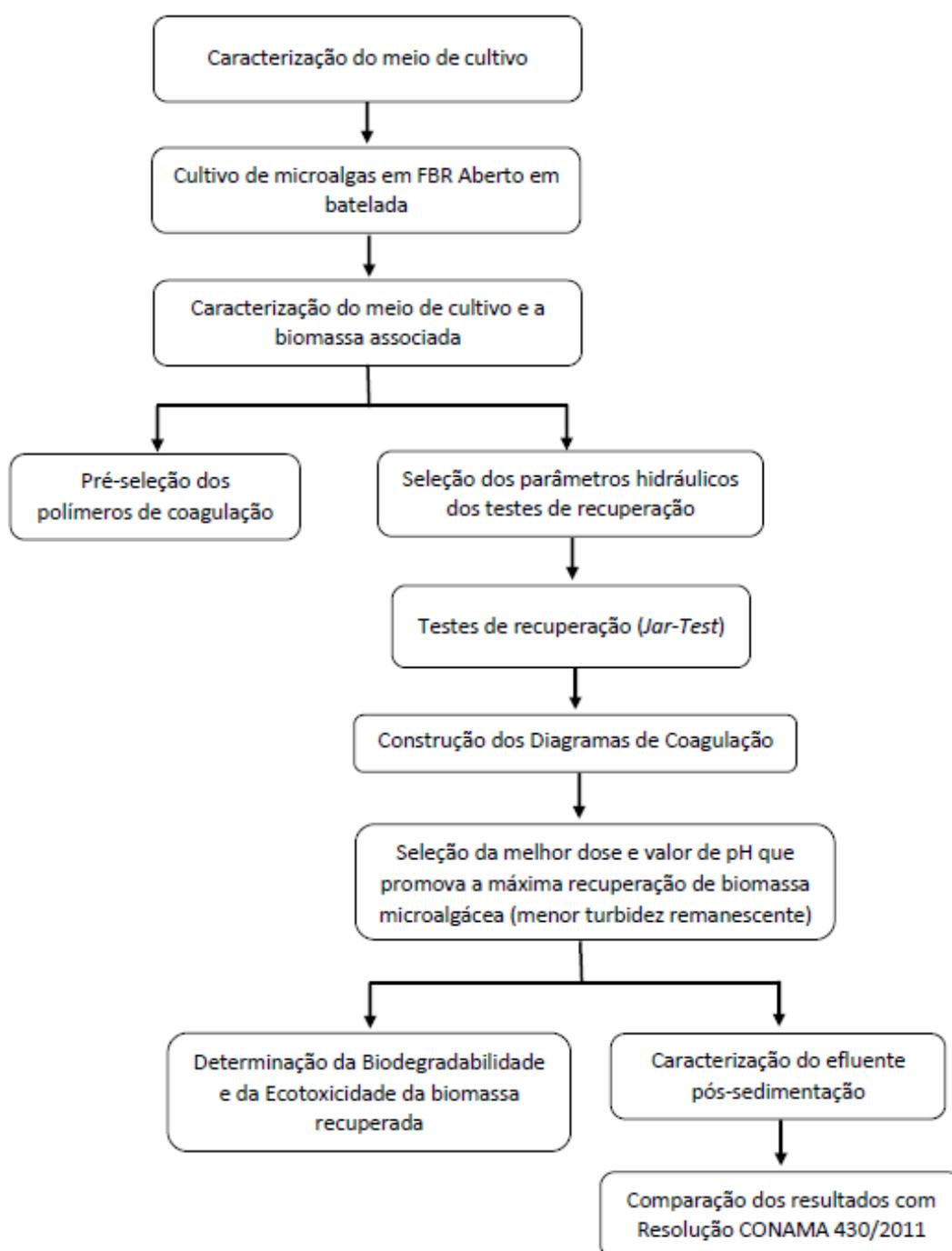
A **Tabela 7** apresenta um resumo das principais vantagens e desvantagens das metodologias mais utilizadas na recuperação de microalgas.

**Tabela 7:** Principais vantagens e desvantagens de diferentes metodologias de BMA (GRIMA *et al.*, 2003; SHARMA *et al.*, 2011; MOAZAMI *et al.*, 2012; LIVE FUELS INC., 2012; GONZÁLEZ-FERNANDES, 2011; VANDAMME *et al.*, 2013; GERDE *et al.*, 2014).

<b>Método</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Centrifugação</b>	Muito eficiente; gera biomassa com baixa humidade	Alto consumo energético, pode causar danos às células
<b>Filtração</b>	Alta eficiência; baixo requerimento energético	Pode colmatar facilmente, processo pode ser lento
<b>Sedimentação natural</b>	Baixo (ou nenhum) requerimento energético	Processo lento, baixa eficiência
<b>Separação eletroquímica</b>	Muito eficiente; não gera poluição secundária; requerimento energético moderado; não necessita de adição de produtos químicos	Sacrifício de eletrodos, pode causar danos às células das microalgas;
<b>Flotação</b>	Rápido tempo de reação; flexibilidade operacional; captura de partículas com diâmetros menores que 500 µm	Pode precisar de emulsificantes; requer inserção de ar; eficiência dependente do diâmetro das bolhas de ar
<b>Coagulação-floculação química</b>	Muito eficiente; processo moderadamente rápido; simplicidade operacional; baixo requerimento energético;	Possível de contaminação secundária, pode ser onerosa em altas doses de coagulantes
<b>Coagulação-floculação com biofloclantes</b>	Muito eficiente; baixo requerimento energético; ambientalmente favorável; biomassa biodegradável;	Pode ser onerosa em altas doses de coagulantes
<b>Autofloculação</b>	Muito eficiente; livre de contaminantes químicos; custo-efetiva	Específica para algumas espécies; processo ainda em não seguramente conhecido
<b>Separação magnética</b>	Moderado requerimento energético; Pouca (ou nenhuma) geração de poluição secundária	Alto custo das nanopartículas; depende da estabilidade química e da capacidade absorptiva das nanopartículas

## 4 METODOLOGIA

Para atingir os objetivos deste trabalho, foram realizadas as etapas descritas no Fluxograma apresentado na **Figura 6**.



**Figura 6:** Fluxograma descritivo das principais etapas desenvolvidas para o cumprimento dos objetivos apresentados.

## 4.1 Condições de Crescimento de Microalgas

O meio de cultivo para o crescimento da BMA foi o efluente do reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) da Estação experimental de Tratamento de Esgoto (ETE) localizada nas dependências do Núcleo Água, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). A caracterização físico-química<sup>1</sup> do efluente do UASB foi determinada pelos parâmetros pH, alcalinidade total, DQO, DBO, fósforo total, fósforo dissolvido (ortofosfatos), nitrogênio total nitrogênio total Kjeldahl e amoniacal, sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV), turbidez e clorofila- $\alpha$  determinados de acordo com as metodologias propostas pelo SMEWW (APHA, 2012), conforme **Tabela 8**.

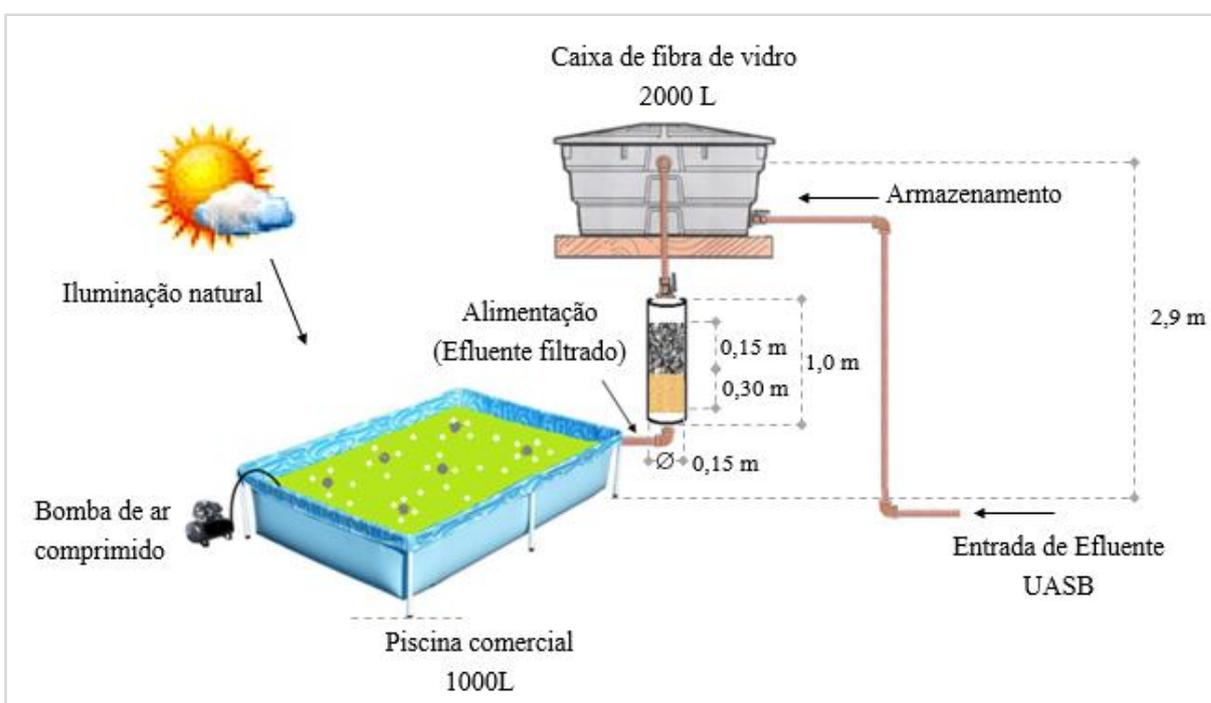
**Tabela 8:** Valores médios ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) de parâmetros físico-químicos do efluente Anaeróbio (UASB) e utilizado para o isolamento, caracterização, crescimento e manutenção de microalgas (n=3).

Parâmetro	$\bar{x}$	CV (%)
pH	7,7	0,5
DQO (mg/L O <sub>2</sub> )	345	9
DBO (mg/L O <sub>2</sub> )	110	7
Fósforo total (mg/L)	9,8	1,4
Ortofosfatos (mg/L)	4,7	9,9
Nitrogênio total (mg/L)	37,2	5,9
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	10,0	2,8
Sólidos suspensos totais (mg/L)	481,3	0,0
Sólidos suspensos voláteis (mg/L)	170,5	14,6
Turbidez (UNT)	3,0	1,9
Clorofila- $\alpha$ ( $\mu\text{g/L}$ )	0,8	2,6
Alcalinidade total (mg/L)	206,8	2,4

O efluente foi coletado na saída do reator e armazenado em caixa de fibra de vidro comercial de 2000 litros. Para a potencial remoção de partículas em suspensão e organismos como fungos e protozoários, o efluente foi filtrado em filtro de areia fina (diâmetro entre 0,06 e 0,2 mm) e brita número zero (malha 12 milímetros), conforme **Figura 7**. Para a potencialização do crescimento de microalgas, o efluente filtrado foi inoculado com cultura pura de *Chlorella sp.* cultivada e mantida no banco de culturas microalgáceas do Laboratório de Saneamento (LABSAN) da UFES, em

<sup>1</sup> Todos os parâmetros físico-químicos foram avaliados em triplicata.

concentrações na fase estacionária da ordem de  $2,0 \times 10^7$  células/mL. A produção de BMA foi realizada em piloto de fotobiorreator (FBR) processado em batelada com duração de 8 dias, o qual consistiu de um tanque de plástico de  $1,0 \text{ m}^3$  de volume e 40 cm de altura, com sistema de aeração por bomba de compressão de ar programada para aeração por 15 minutos, a cada três horas, em temperaturas ambiente em torno de  $30^\circ\text{C}$  durante o período diurno (**Figura 7**). Em laboratório foram monitoradas as concentrações de clorofila- $\alpha$ , SST e SSV como os parâmetros de crescimento de BMA.



**Figura 7:** Esquema ilustrativo do sistema piloto de produção de BMA.

## 4.2 Caracterização do Efluente de UASB e a BMA Associada

A fim de se conhecer as características físico-químicas das amostras que foram utilizadas nos testes de recuperação de BMA, foram monitorados, diariamente, alguns parâmetros que podem influenciar no mecanismo de coagulação, os quais são a concentração de clorofila- $\alpha$ , a turbidez, a relação entre sólidos suspensos voláteis e suspensos totais (SSV/SST), a temperatura, o pH e as microalgas mais abundantes entre os microrganismos associados ao efluente de UASB. A caracterização físico-química esporádica completa das amostras utilizadas nos testes de recuperação de

BMA foi determinada pelos parâmetros pH, alcalinidade total, DQO, DBO, fósforo total, fósforo dissolvido (ortofosfatos), nitrogênio total e amoniacal, SST, SSV, turbidez e clorofila- $\alpha$  determinados de acordo com as metodologias propostas pelo SMEWW (APHA, 2012).

Imagens de microscopia óptica das principais espécies de microalgas com crescimento associado ao efluente de UASB foram realizadas em microscópio óptico CARL ZEISS AXIOPLAN utilizando câmera digital (MC80DX) acoplada ao equipamento, em objetiva de 40  $\mu\text{m}$ . Vale ressaltar que a identificação dos microrganismos presentes nas amostras é um passo importante, uma vez que cultivo em FBR aberto favorece o crescimento de microrganismos heterotróficos juntamente com as células microalgáceas.

O isolamento de microrganismos com crescimento associado à biomassa foi realizado pelo método da micropipetagem, seguido pelo método de placas por esgotamento em estria em meio sólido de efluente de UASB autoclavado com 1,5% de ágar. (Andersen e Kawachi, 2005; Guillard, 2005).

### **4.3 Pré-Seleção dos Polímeros de Coagulação**

A fim de selecionar os potenciais coagulantes naturais para recuperação de biomassa, foi realizado um teste preliminar de coagulação com 5 (cinco) coagulantes naturais: sementes de *M. oleífera*, polímero extraído de quiabo (*H. esculentus*), sementes de abóbora, tanino modificado (Tanfloc<sup>®</sup> Pop), amido de mandioca modificado (SUPERION<sup>®</sup> 300) e um floculante sintético à base de poliácridamida (GELFLOC<sup>®</sup> 5020).

O teste preliminar consistiu na adição simultânea e arbitrária de 12,5 mg de polímero em 250 mL de amostra de BMA contidos em erlenmeyers de vidro, para três valores de pH (5, 7 e 9), com agitação mecânica de 75 rpm, por 1 minuto. Em seguida, as amostras ficaram em repouso por 15 minutos, para sedimentação dos flocos. Após a sedimentação, foram coletados os sobrenadantes e então foram avaliados os valores

de turbidez remanescente. Foram selecionados para os testes de recuperação os coagulantes que proporcionaram menor turbidez remanescente em todos os valores de pH avaliados.

## 4.4 Polímeros de Coagulação

Os ensaios de coagulação-floculação que foram efetuados utilizando-se quatro polímeros naturais (tanino modificado Tanfloc<sup>®</sup> Pop, pó de sementes secas de *M. olifera*, goma extraída do quiabo *H. esculentus* e amido de mandioca catiônico SUPERION<sup>®</sup> 300) e sulfato de alumínio, uma vez que este consiste em uma referência no processo de coagulação de microalgas.

### 4.4.1 Tanino Modificado

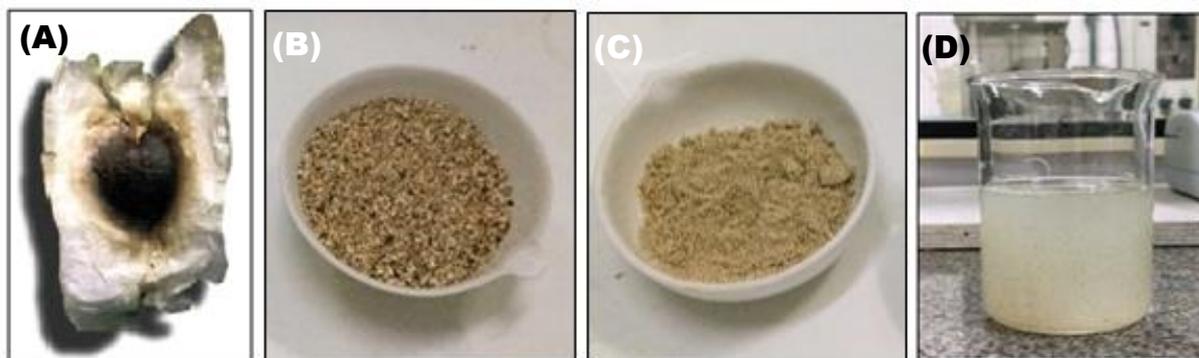
O tanino modificado foi o Tanfloc<sup>®</sup> Pop, que é um coagulante/floculante catiônico solúvel em água, de baixo peso molecular, com pH de 1,8 a 2,7 (em solução 10% P/V), fabricado através de modificações químicas orgânicas do extrato de tanino da casca da Acácia. O coagulante em pó (**Figura 8-A**), cedido pela TANAC<sup>®</sup> S.A., foi dissolvido em água destilada, em temperatura ambiente, resultando em solução de 5,0 gramas de tanino por litro de água (**Figura 8-B**).



**Figura 8:** (A) tanino modificado Tanfloc® Pop em pó; (B) solução de 5 g/L de Tanfloc® Pop, dissolvido em água destilada.

#### 4.4.2 Pó de Sementes de *Moringa Oleifera*

As sementes de *M. oleífera* (**Figura 9-A**) foram obtidas em mercado local e foram secadas em estufa FISHER SCIENTIFIC® a 60°C e processadas em moedor comercial BOTIMI®, após a retirada das asas das sementes (parte branca da semente seca). O produto obtido do processamento (**Figura 9-B**) foi submetido à secagem em estufa a 105°C, durante 120 minutos. Após a secagem, o produto foi peneirado em peneira mecânica em malha de 500 µm (32 *mesh*) para a retirada das frações que não foram totalmente moídas (TEIXEIRA *et al.*, 2012; HAMID *et al.*, 2014), e depois em malha de 250 µm (60 *mesh*), para obtenção de um pó fino e homogêneo (**Figura 9-C**). O pó homogêneo obtido das sementes foi mantido em um recipiente âmbar, livre de umidade, para retardar o processo de oxidação do produto (TEIXEIRA *et al.*, 2012). Para o preparo da solução coagulante, o pó foi misturado em água destilada, em temperatura ambiente, sob agitação magnética, resultando em uma solução esbranquiçada de concentração de 5,0 gramas de pó por litro de água (**Figura 9-D**). A solução resultante foi peneirada em filtro de café comercial e mantida a 20°C.



**Figura 9:** (A) semente seca de *M. oleífera*; (B) produto obtido do processamento das sementes secas peneirados em malha de 32 mesh; (C) produto obtido do processamento das sementes secas peneirados em malha de 60 mesh; (D) solução coagulante obtida a partir do pó peneirado em malha de 60 mesh em água destilada.

#### 4.4.3 Amido de Mandioca Catiônico SUPERION® 300

O amido de mandioca modificado de caráter catiônico utilizado neste trabalho foi o SUPERION® 300 (**Figura 10-A**), cedido pela Horizonte Amidos, do Grupo Horizonte. O amido modificado catiônico é tratado com reagentes que possuem radicais imina, amina e amônio. A solução de amido foi obtida da mistura do pó em água, nas proporções de 5,0 g/L e, como o polímero em pó não é solúvel em água em temperatura ambiente de trabalho (21 a 25°C), este foi solubilizado a 60°C em chapa aquecedora, formando um líquido viscoso (**Figura 10-B**), o qual foi armazenado em geladeira a 20°C.



**Figura 10:** (A) Amido de mandioca catiônico SUPERION® 300; (B) solução de amido obtida da mistura do pó com água destilada e solubilizada a 60°C em chapa aquecedora.

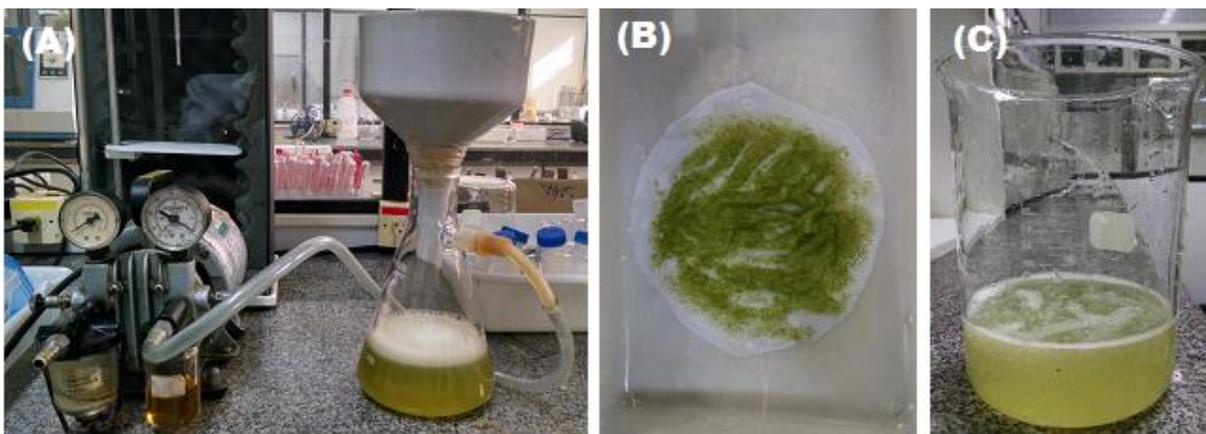
#### 4.4.4 Goma Extraída do Quiabo (*H. esculentus*)

Para a produção do coagulante a partir da goma extraída do quiabo, foram realizadas quatro macro-etapas: Limpeza e corte, extração, precipitação e lavagem e refino, as quais estão esquematizadas no fluxograma, apresentado na **Figura 11**, e explicadas em detalhe consecutivamente.



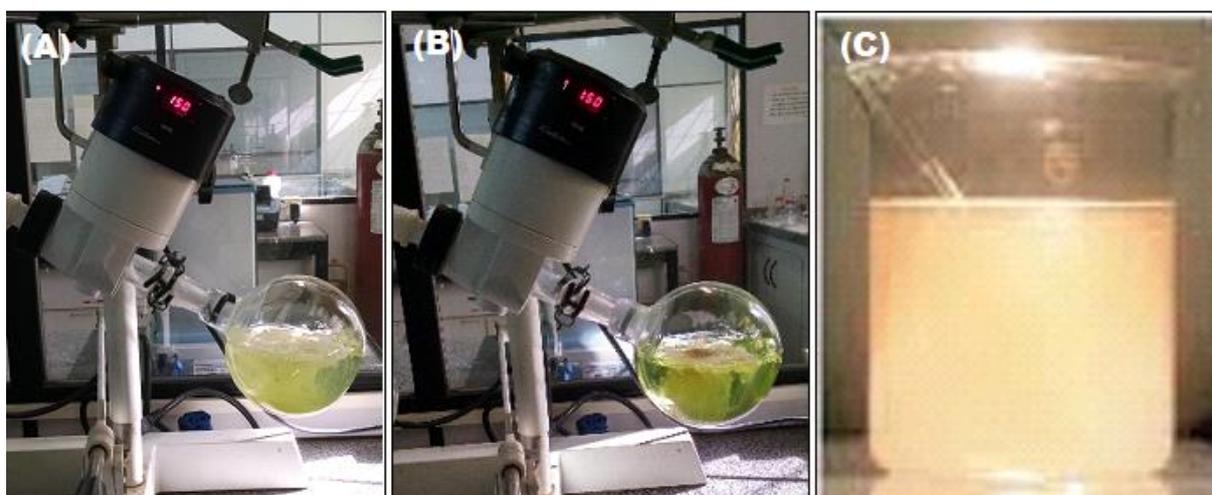
**Figura 11:** Fluxograma representativo das quatro macro-etapas do processo de produção do polímero coagulante à base da goma de quiabo: Limpeza e Corte, Extração, Precipitação e Lavagem e Refino.

A primeira etapa consistiu na lavagem das vagens de quiabo da espécie *H. esculentus*, obtidas em mercado local, com água destilada para retirada das impurezas externas. Logo em seguida foi feita a retirada do cálice das vagens e a retirada das sementes, a fim de concentrar a massa do quiabo que contém as substâncias coagulantes (AGARWAL *et al.*, 2001; GIORDIADIS *et al.*, 2011). A etapa de Extração consistiu na trituração das vagens em água destilada à 50°C, em processador comercial, na razão de 1:7 p/v, por um minuto. Após a trituração, foi feita a filtração do conteúdo obtido em malha de musseline (**Figura 12-A**), em sistema de filtração a vácuo, para a separação das frações sólidas (**Figura 12-B**) da baba diluída em água (**Figura 12-C**) (TAVACOLI, 2008; PRANNE *et al.*, 2011).



**Figura 12:** Etapa de extração da baba do quiabo (fração solúvel em água): (A) filtração do conteúdo obtido a partir das vagens do quiabo em malha de musseline; (B) frações sólidas; (C) fração solúvel em água extraída do quiabo (*H. esculentus*).

Na terceira etapa, de precipitação e lavagem, a baba diluída em água foi submetida à extração em etanol P.A., sob rotação de 150 rpm, por 3 horas, em uma taxa de 1:1 V/V, para a extração da goma do quiabo (**Figura 13-A**). A goma (fase sólida) obtida na extração foi lavada em acetona P.A, sob agitação de 150 rpm, por 1 hora, em uma relação de 1:1 V/V, para extração de impurezas e pigmentos (**Figura 13-B**). A goma obtida foi filtrada em malha de musseline, em sistema a vácuo, para retirada do etanol e da acetona dentre os fios da goma. A etapa de refino consistiu da solubilização da goma obtida, em água destilada, à 65°C, em chapa aquecedora, formando um gel de concentração de 5,0 g de goma por litro de água (**Figura 13-C**).



**Figura 13:** Etapas de extração da goma do quiabo: (A) extração da goma do quiabo em etanol; (B) lavagem em acetona para extração de impurezas e pigmentos; (C) solubilizado da goma obtida, em água destilada, à 65°C em chapa aquecedora.

#### 4.4.5 Sulfato de Alumínio

Por fim, a solução de sulfato de alumínio foi determinada a partir da diluição de sulfato de alumínio hidratado ( $\text{Al}_2(\text{SO}_3)_3 \cdot 14\text{-}18\text{H}_2\text{O}$ ) em água destilada com solução resultante de 5,0 g Al /L, a qual foi armazenada em temperatura ambiente (21 a 25°C).

### 4.5 Parâmetros Hidráulicos

Os parâmetros hidráulicos que regem o mecanismo de coagulação-floculação-sedimentação foram estabelecidos de acordo com adaptações das recomendações de Richter (2009) para ensaios em teste de jarros, para águas para abastecimento, de acordo como apresentado na **Tabela 9**.

**Tabela 9:** Parâmetros hidráulicos estabelecidos para a realização dos testes de coagulação.

Parâmetro	Valor	Unidade
Volume de amostra ( $V_a$ )	0,8	L
Tempo de Mistura Rápida (TMR)	2,0	s
Rotação de Mistura Rápida (RMR)	217	rpm
Gradiente de Velocidade de Mistura Rápida (GMR)	2259	$\text{s}^{-1}$
Tempo de Floculação 1 ( $\text{TF}_1$ )	5,0	min
Rotação de Floculação 1 ( $\text{RF}_1$ )	41	rpm
Gradiente de Velocidade de Floculação 1 ( $\text{GF}_1$ )	183	$\text{s}^{-1}$
Tempo de Floculação 2 ( $\text{TF}_2$ )	5,0	min
Rotação de Floculação 2 ( $\text{RF}_2$ )	25	rpm
Gradiente de Velocidade de Floculação 2 ( $\text{GF}_2$ )	25	$\text{s}^{-1}$
Tempo de Sedimentação (TS)	15,0	min
Velocidade de Sedimentação ( $V_s$ )	0,5	cm/min

### 4.6 Testes de Jarros e Diagramas de Coagulação

Os testes de jarros (*Jar-Test*), foram realizados em bancada para reproduzir as condições do processo de coagulação-floculação seguido de sedimentação, em busca da melhor eficiência de recuperação de BMA. O equipamento de ensaio (**Figura 14**) consiste em um misturador Nova Ética Oxx11 218/LBD, que contém seis jarros providos de pás capazes de operar com velocidade variável em rotações por minuto.

O gradiente de velocidade pôde ser obtido em função da rotação adotada, do volume e da temperatura das amostras.



**Figura 14:** Equipamento utilizado para os Testes de Jarros (*Jar-Test*).

Para realização do ensaio, 0,8 L de amostra (cultivo de BMA) foi inserido em cada jarro, os quais foram dosados com diferentes volumes de coagulante, simultaneamente, sob agitação. Após a mistura rápida, as amostras foram submetidas à etapa de floculação para a formação dos flocos e, depois, deixou-se sedimentar por 15 minutos. Vale ressaltar que os gradientes de velocidade foram redimensionados para o volume de amostra adotado (0,8 L), uma vez que o padrão de amostra é de 2,0 L para que os gradientes de velocidade sejam calculados pela tabela fornecida no display do aparelho (RICHTER, 2009). Os cálculos de correção estão apresentados no **ANEXO I**.

O tempo e intensidade de agitação, assim como a velocidade de sedimentação dos flocos foram os mesmos para todas as amostras, de modo a buscar uma padronização operacional. Após o tempo de sedimentação, foram avaliados a turbidez remanescente do sobrenadante por meio de turbidímetro de bancada e o pH da amostra com pHmetro portátil (DI BERNARDO & DI BERNARDO, 2002). A retirada dos efluentes pós sedimentação dos jarros foi realizada em pontos de mesma altura marcados por réguas adesivadas na parede exterior dos jarros, de modo que a velocidade de sedimentação de 0,5 cm/min seja respeitada. As amostras utilizadas nos ensaios de recuperação foram coletadas na fase estacionária de crescimento. A fase estacionária de crescimento foi adotada para a coleta das amostras, baseando-

se nos estudos de Zheng *et al.* (2012). O estudo mostrou que a superfície celular na fase estacionária de células da microalga *Chlorella zofingiensis* têm menores concentrações de grupos carboxílicos que, durante a fase exponencial de crescimento, requerem uma menor dosagem de coagulante para a indução da floculação.

Os diagramas de coagulação, para avaliação da dose de coagulante e do pH ótimo para uma boa recuperação de biomassa foram elaborados de acordo com metodologias propostas por Paixão (1996). A construção do diagrama foi realizada através de curvas de turbidez remanescente em função das doses de coagulante aplicadas e o referido pH ajustado para as doses aplicadas (DI BERNARDO *et al.*, 2002). As faixas de pH apresentadas nos diagramas foram selecionadas de acordo com a faixa de pH observada ao longo dos dias de crescimento da BMA. As dosagens máximas e mínimas dos coagulantes foram selecionadas a partir do aumento da turbidez remanescente em relação à turbidez inicial, observada antes da submissão ao processo de coagulação-floculação.

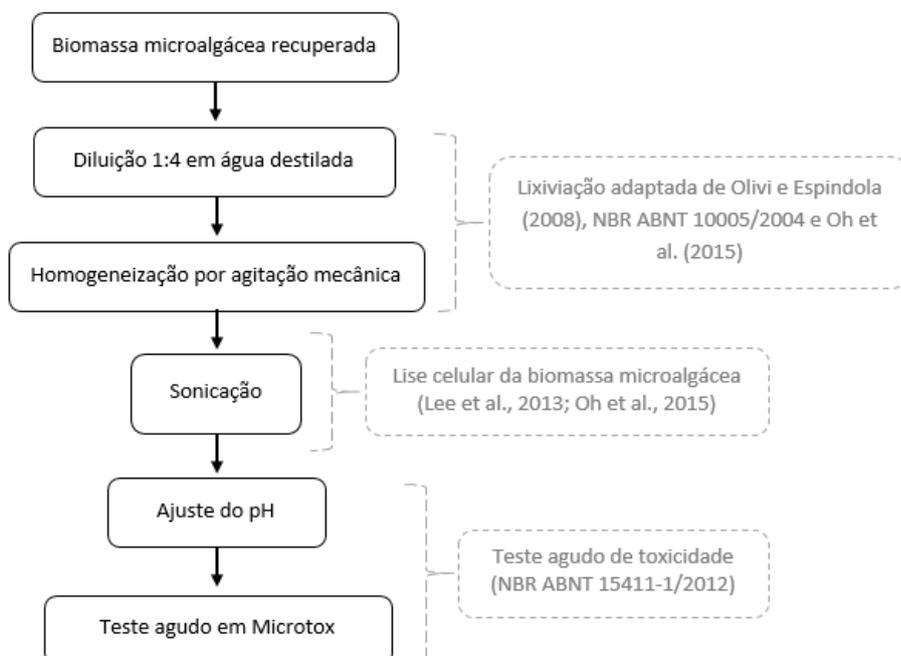
#### **4.7 Caracterização da BMA Recuperada**

A caracterização da BMA recuperada, pelos três coagulantes mais eficientes para a faixa de pH apresentada no crescimento da biomassa, foi determinada pela análise microscópica dos flocos formados, pela relação SSV/SST e pelo pH remanescente e pela ecotoxicidade apresentada em teste de toxicidade aguda.

Após os ensaios de coagulação-floculação no teste de jarros, um pequeno volume de cada uma das amostras foi recolhido em tubo falcon estéril de 50 mL para posterior análise por microscopia de luz a fim de avaliar a influência do coagulante na BMA. O material foi homogeneizado e uma alíquota foi colocada em lamina histológica de vidro e levada para observação em um microscópio óptico Olympus AX70. As imagens foram obtidas utilizando uma câmera digital (Axio Cam ERc5s, ZEISS) acoplada ao equipamento. O software utilizado para obtenção das imagens foi o Axion Vision Release 5.8.2. As superfícies das BMAs também foram avaliadas por microscopia

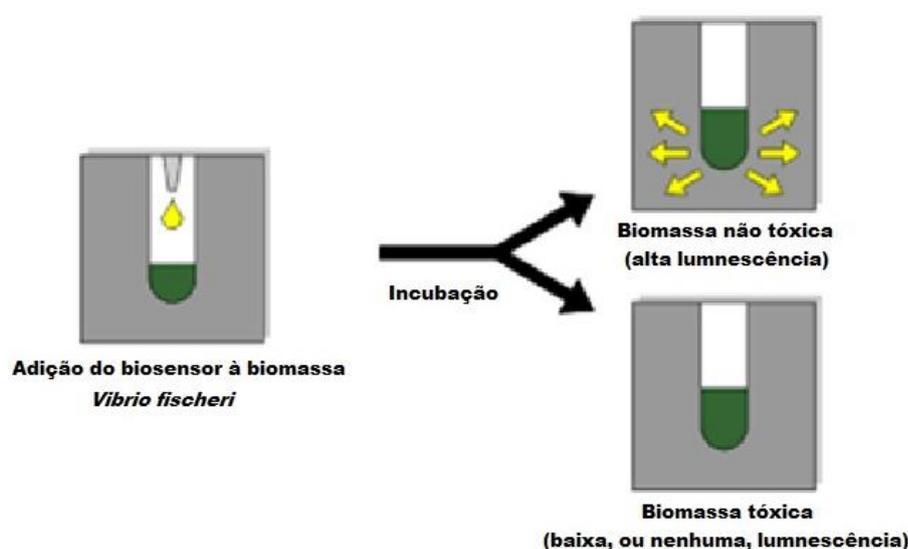
eletrônica de varredura. Para isso uma alíquota de 2 mL de cada amostra foi fixada em glutaraldeído 2,5% + folmaldeído 2% tamponada (pH 7,2 - 7,4) com cacodilato de sódio 0,1mol/L por 24 horas. A pós-fixação foi realizada em solução de ferrocianeto de potássio 1,25% e tetróxido de ósmio 1,0% (1h / T°C ambiente). Após esta etapa as amostras foram lavadas com tampão cacodilato e posteriormente com água “miliQ”, seguido da desidratação em gradiente crescente de etanol (30, 50, 70, 90 e 100%). As amostras foram então submetidas a secagem em ponto crítico (Autosandri-815, Tousimis) e posterior cobertura de ouro em metalizador (Desk V, Denton Vaccum). As imagens foram adquiridas em microscópio eletrônico de varredura da JEOL (JEM6610 LV), operado a 20 KV com filamento de tungstênio utilizando o detector de elétrons secundários, no Laboratório de Microscopia do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFES.

A ecotoxicidade da BMA recuperada foi determinada pelo teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri* em Sistema Microtox®, de acordo com o fluxograma a apresentado na **Figura 15**.



**Figura 15:** Fluxograma das etapas realizadas na determinação da ecotoxicidade das amostras de biomassa recuperadas.

O teste selecionado para a determinação da ecotoxicidade da BMA recuperada, pelos três coagulantes que forneceram a maior recuperação de biomassa, foi o teste básico padronizado pela ABNT NBR 15411-1/2012, que consiste em reidratar a bactéria *Vibrio fischeri* e fazer a leitura da intensidade da luminescência inicial, sem contato com as amostras de BMA recuperada para cada polímero, seguida de leituras da luminescência após a exposição das bactérias à BMA (**Figura 16**). A análise estatística do ensaio baseia-se no efeito perda de bioluminescência em função da concentração de BMA aplicada.



**Figura 16:** Esquema ilustrativo da determinação da ecotoxicidade da biomassa recuperada pelo teste de luminescência.

Anteriormente a realização dos testes de ecotoxicidade, as amostras foram preparadas de modo a cumprir as características exigidas pelo teste estabelecido pela ABNT NBR 15411-1/2012. A norma preconiza que amostras líquidas que contêm alta turbidez devem ser lixiviadas previamente ao teste de toxicidade. O processo de lixiviação foi adaptado de ABNT NBR 10005/2004, Olivi *et al.* (2008) e Oh *et al.* (2015). Desta maneira, a lixiviação das amostras consistiu na homogeneização de amostras (**Figura 17-A**) que continham 5 mL de biomassa microalgácea e 15 mL de água destilada, as quais foram utilizadas para realização do teste Microtox<sup>®</sup>. Essas amostras foram submetidas à agitação, a 160 rpm e 20°C, em misturador mecânico automático.

Para a liberação do conteúdo das células microalgáceas e homogeneização das amostras, estas foram submetidas a ultrassom em homogeneizador ultrassônico (**Figura 17-B**) Biologics Inc. 300 VT, sob frequência de 20 Hz e potência de 120 W, por 3 minutos, em banho de gelo para não deixar que as amostras superaqueçam (OLIVI *et al.*, 2008; OH *et al.*, 2015). Após a sonicação, foram ajustados o pH das amostras entre 6 e 8,5 e foram verificados os valores de turbidez estavam abaixo de 100 UNT, de acordo com o requerido pelo teste em aparelho Microtox® (**Figura 17-C**).



**Figura 17:** (A) Homogeneizador mecânico; (B) Homogeneizador ultrassônico; (C) Aparelho Microtox®.

Os dados estatisticamente tratados e emitidos pelo sistema Microtox a partir do software Microtox OMINI®, são os valores de  $CE_{50}$ , os quais consistem na a concentração de uma amostra que provoca uma diminuição de 50% na luz emitida pelas bactérias *Vibrio fischeri*.

#### 4.8 Caracterização dos Efluentes Pós Sedimentação

A caracterização dos efluentes gerados após a sedimentação da BMA foi determinada pelos parâmetros pH, alcalinidade total, DQO, DBO, fósforo total e dissolvido, nitrogênio total e amoniacal, determinados de acordo com as metodologias propostas pelo SMEWW (APHA, 2012). A eficiência de remoção/diminuição de determinado parâmetro em relação ao efluente anaeróbio foi determinada pela Equação I, na qual E corresponde à diminuição/eficiência de remoção de determinado parâmetro, em porcentagem,  $C_0$  ao valor encontrado para o parâmetro avaliado no efluente anaeróbio e C o valor do parâmetro avaliado no efluente final após sedimentação da BMA.

$$E(\%) = \frac{C-C_0}{C} \times 100 \quad (I)$$

#### **4.9 Tratamento Estatístico**

O tratamento estatístico correspondeu à análise de variância ANOVA associada ao teste de Tukey, para determinar a existência de diferenças entre os valores dos parâmetros físico-químicos avaliados, com nível de significância de  $\alpha = 5,0\%$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sistema piloto de FBR aberto, em batelada, construído para o cultivo de microalgas, está apresentado na **Figura 18**.



**Figura 18:** Sistema piloto do FBR aberto em batelada para de produção de BMA, localizado nas dependências do Núcleo Água, na Universidade Federal do Espírito Santo - UFES.

A **Tabela 10** apresenta os resultados obtidos na caracterização do efluente coletado na saída do reator UASB e da cultura de BMA na fase estacionária de crescimento, na qual as densidades eram da ordem de, aproximadamente,  $10^7$  cel./mL.

**Tabela 10:** Valores médios ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) dos principais parâmetros físico-químicos avaliados para o efluente de UASB, filtrado em filtro de areia e brita, e para o cultivo de BMA (n=3).

Parâmetro	Efluente UASB		Cultivo de BMA	
	$\bar{x}$	CV (%)	$\bar{x}$	CV (%)
pH	7,8	0,5	10,5	0,4
DQO (mg/L O <sub>2</sub> )	345	9,1	310	19,8
DBO (mg/L O <sub>2</sub> )	110	7,6	23	15,7
Fósforo total (mg/L)	9,8	1,4	8,9	12,0
Ortofosfatos (mg/L)	4,7	9,9	1,5	5,2
Nitrogênio total NTK(mg/L)	37,2	6,0	6,7	5,2
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	8,1	1,6	0,8	0,1
Sólidos suspensos totais (mg/L)	481	0,0	717	5,2
Sólidos suspensos voláteis (mg/L)	171	14,6	321	25,0
Turbidez (UNT)	3,1	1,9	192	1,2
Clorofila- $\alpha$ ( $\mu$ g/L)	1,0	2,6	403	14,5
Alcalinidade total (mg/L)	207	2,4	45	6,3

Pode-se observar que, a partir dos dados de SST e de turbidez, houve, como esperado, o aumento do número de partículas suspensas no meio devido ao crescimento de BMA e demais microrganismos que possam se desenvolver no efluente, como fungos, protozoários e bactérias. Observando-se em paralelo os valores de SSV e das concentrações de clorofila-  $\alpha$ , pode-se pressupor o crescimento de biomassa autotrófica (BMA), devido ao aumento da concentração de clorofila-  $\alpha$  em paralelo ao aumento da matéria orgânica, representada pelos valores de SSV.

O consumo de macronutrientes, como o fósforo, é essencial para o crescimento das microalgas, sendo a parcela dissolvida (ortofosfatos) a preferencial para o suprimento da biomassa microalgácea (FAKIR *et al.*, 2011). Observando os dados da **Tabela 10**, pode-se verificar que, após o crescimento de biomassa no efluente, houve a diminuição das concentrações de ortofosfato, constatando a absorção desse nutriente pela biomassa. Assim como o fósforo, o nitrogênio é outro macronutriente limitante para o crescimento de BMA. O nitrogênio, no efluente UASB, também é encontrado na forma amoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) (KASSAB *et al.*, 2010; CHONG *et al.*, 2012), forma

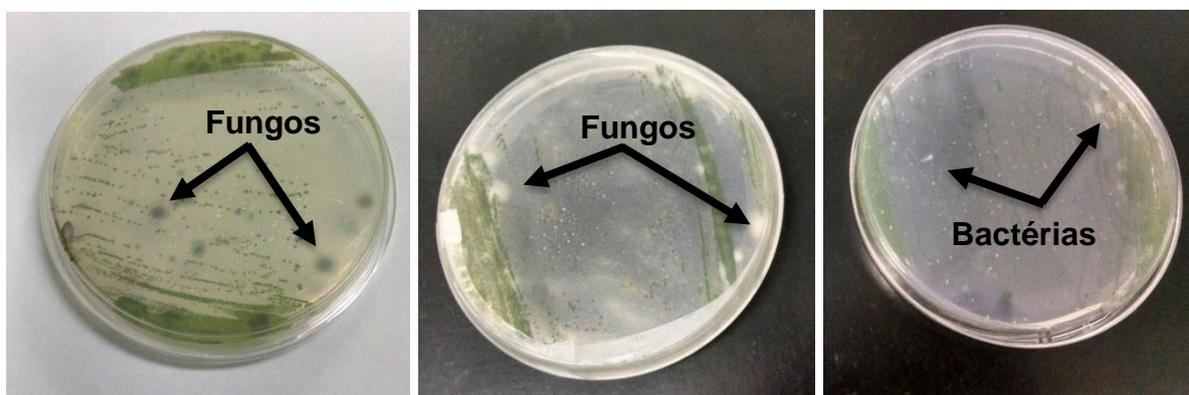
preferencial de nitrogênio no suprimento microalgáceo (FAKIR *et al.*, 2011), o que pode ser pressuposto pela diminuição da concentração de nitrogênio amoniacal dissolvido no cultivo de microalgas, em relação à concentração dessa forma nitrogenada no efluente de UASB, a qual se deve à assimilação de íons  $\text{NH}_4^+$  pela biomassa. Vale ressaltar que pode ter ocorrido também a volatilização de amônia, formada a partir dos íons  $\text{NH}_4^+$ , os quais perdem um íon  $\text{H}^+$  em pH alto (acima de 10), segundo a reação  $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^-_{(\text{aq})} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3_{(\text{g})}$  (COSTA *et al.*, 2004).

Apesar das proporções de fósforo e nitrogênio muitas vezes são assumidas para coincidir a relação ótima N:P de 16:1, ideal para o crescimento de microalgas (SUALI & SARBATLY *et al.*, 2012), esta relação não é uma relação bioquímica universal. Isto significa que, mesmo quando o meio de cultura utilizado fornece uma relação baixa desses nutrientes, pode ser necessária a adição de compostos que forneçam nitrogênio e fósforo nas formas assimiláveis pelas microalgas, a fim de alcançar a proporção adequada (CHRISTENSON & SIMS, 2011). Ainda que o meio efluente adotado neste trabalho ter proporcionado uma relação N:P baixa, dada por 3,80, foi possível atingir boa produção de BMA, da ordem de 590 mg de biomassa seca por litro de cultivo.

As principais espécies de microalgas com crescimento associado ao efluente de reator UASB estão representadas na **Figura 19**, as quais se destacam *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp.* e *Synechocystis sp.*, com predominância de cerca de 90% da espécie *Scenedesmus sp.* No crescimento associado ao efluente de UASB também foram encontrados microrganismos como fungos e bactérias, como mostrado na **Figura 20**.

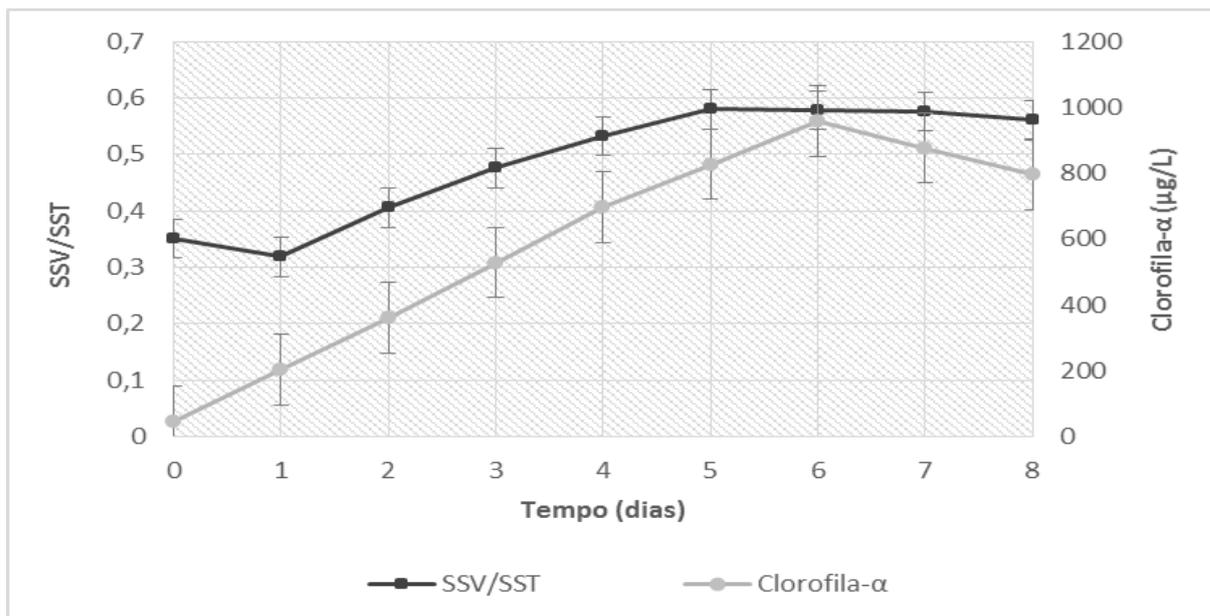


**Figura 19:** Imagens de microscopia óptica, com aumento de 40x, das principais espécies de microalgas com crescimento em efluente de UASB. A, B e C representam as espécies *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.* e *Synechocystis sp.*, respectivamente.



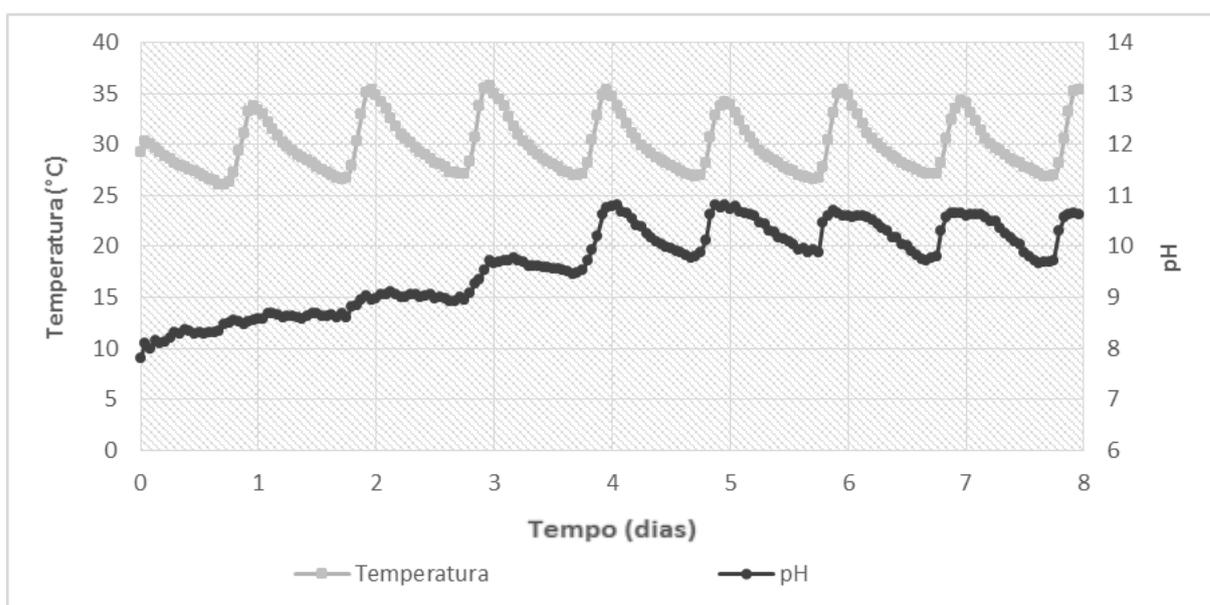
**Figura 20:** Imagens de placas de Petri com crescimento de BMA cultivada no FBR. As setas indicam colônias de fungos e bactérias encontrados juntamente com a BMA.

A **Figura 21** apresenta as concentrações de Clorofila- $\alpha$  e as relações SSV/SST estabelecidas através das médias dos valores obtidos em 6 bateladas.



**Figura 21:** Concentrações de clorofila- $\alpha$  e das relações SSV/SST diárias, ao longo de 8 dias de crescimento (Barras de erros =  $\pm 5\%$ ,  $n=6$ ).

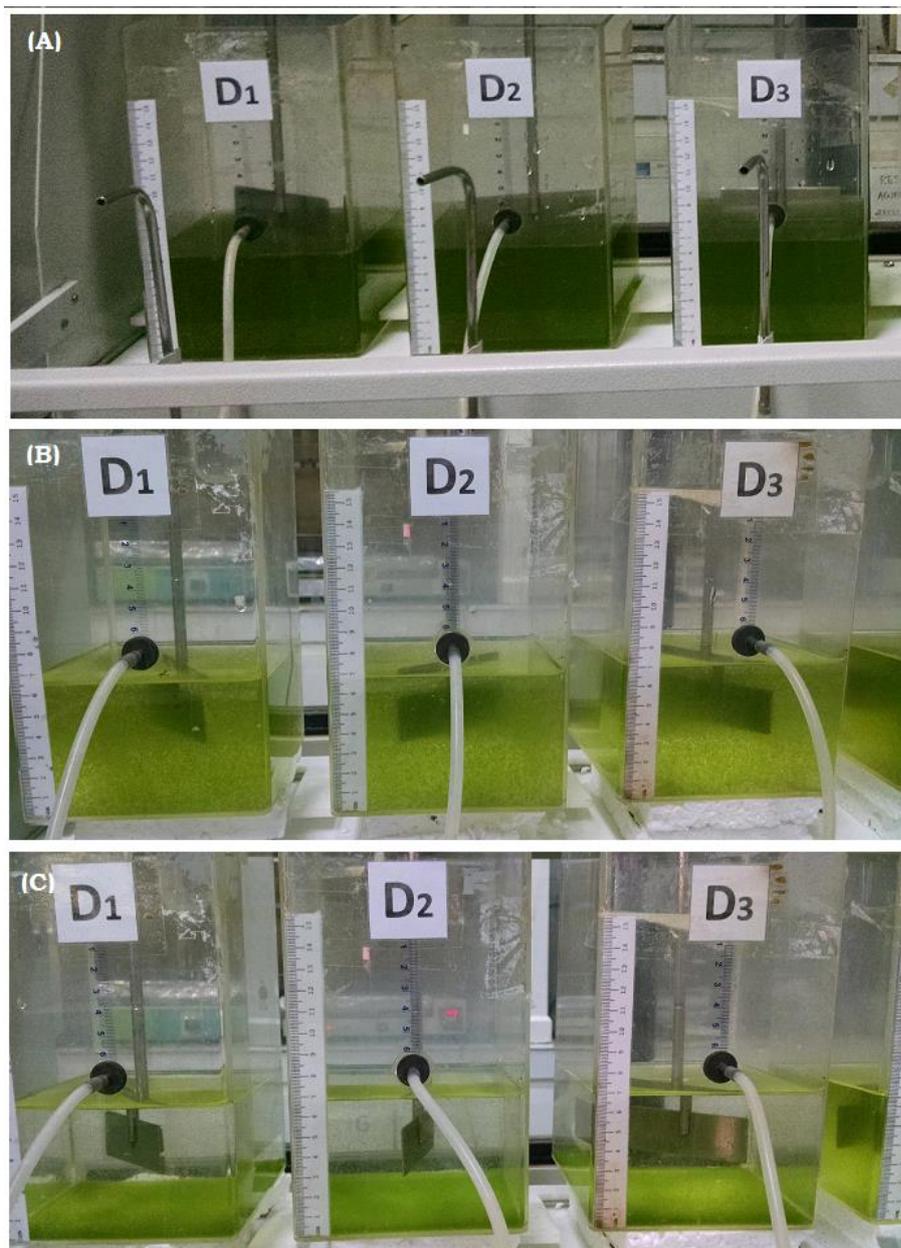
Pode-se verificar que, a partir do primeiro dia de crescimento da BMA, as relações SSV/SST diárias seguem o comportamento similar aos valores de clorofila- $\alpha$  obtidos. A partir dessa análise, pode-se inferir que o aumento de SSV está diretamente relacionado com o crescimento de biomassa autotrófica. Quanto à evolução pH e da temperatura ao longo do crescimento da biomassa, todas as bateladas apresentaram um padrão semelhante, como apresentado no gráfico da **Figura 22**.



**Figura 22:** Ciclo de variação diário de pH e de temperatura do meio de efluente de UASB e a BMA associada, ao longo de 8 dias de crescimento, através das médias dos valores obtidos em 6 bateladas.

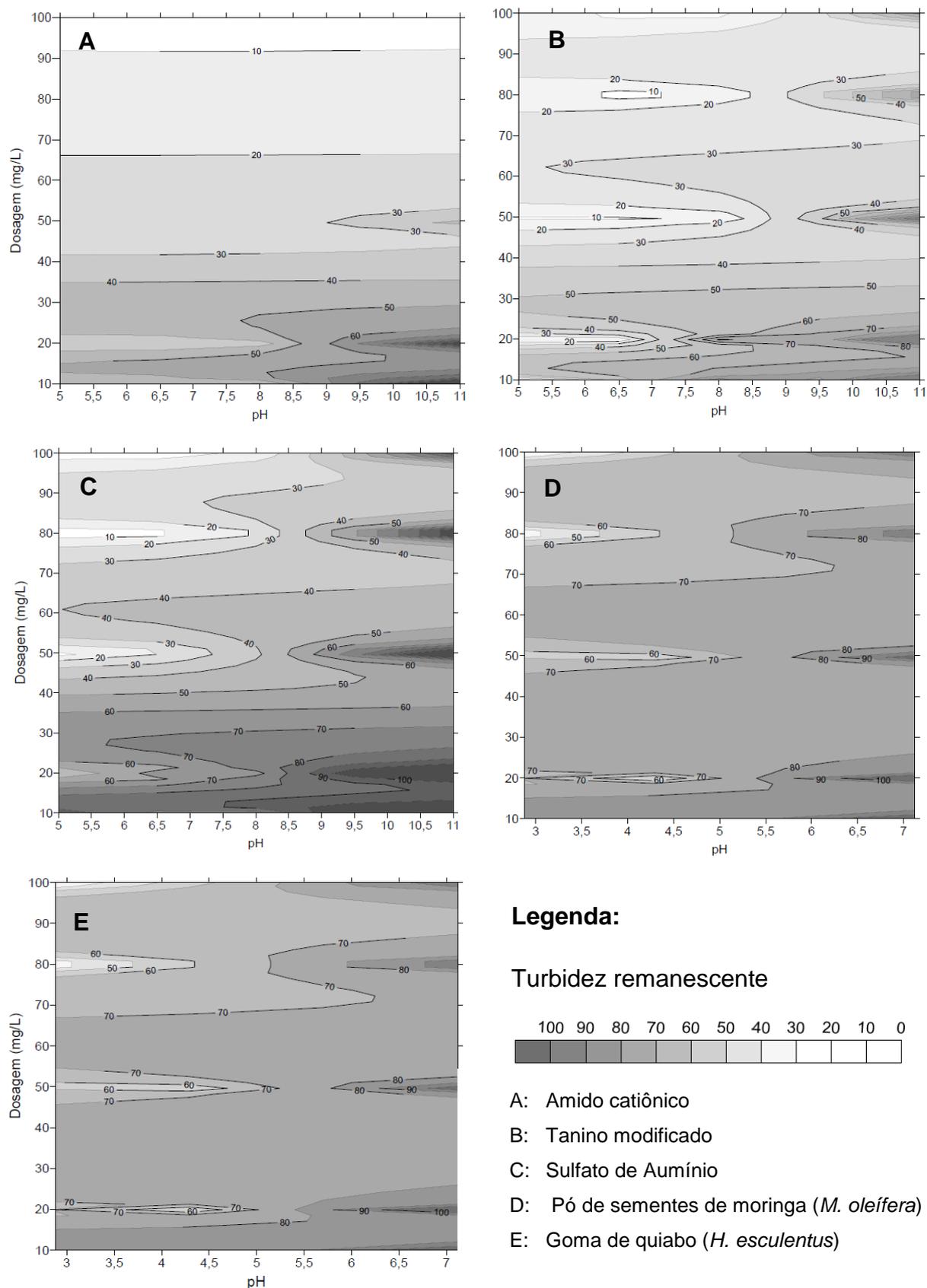
A partir da análise do gráfico da **Figura 22**, nota-se que no meio efluente com a BMA associada o pH se encontrava em torno de 7,8, a partir da inoculação. Nos primeiros três dias de crescimento, observou-se o aumento do pH em torno de 10,0 (Figura 2), decorrente do consumo acelerado de carbono inorgânico ( $\text{CO}_2/\text{CO}_3^{2-}$ ), seguido de um ciclo diário de valores de pH, a partir do quarto dia, que variou entre aproximadamente 11, durante o dia, devido ao consumo de  $\text{CO}_2/\text{CO}_3^{2-}$ , alterando o equilíbrio da relação  $\text{CO}_{2(\text{aq})} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$ , e aproximadamente 9,6, durante a noite, devido à produção de  $\text{CO}_2$  pela respiração celular e o baixo consumo de  $\text{CO}_3^{2-}$ . Em um estudo com 7 diferentes espécies de microalgas, a evolução dos valores de pH foi semelhante. No início dos testes, o pH era cerca de 7,1, atingindo valores médios entre 9,7 e 10,3, após cerca de 3 dias de crescimento (MENNAA *et al.*, 2015).

As três etapas simuladas no teste de jarros, coagulação, floculação e sedimentação estão apresentadas na **Figura 23**. As imagens foram obtidas durante um teste realizado utilizando-se o coagulante sulfato de alumínio, em pH 7, nas concentrações 80, 100 e 150 mg/L. Na **Figura 23-A** está representada a cultura de microalgas precedida da adição do coagulante. A **Figura 23-B** e **Figura 23-C**, por sua vez, mostram os flocos formados após o mecanismo de coagulação-floculação e os flocos sedimentados no fundo dos jarros, respectivamente.



**Figura 23:** Comportamento do cultivo de microalgas no teste de jarros utilizando-se o coagulante sulfato de alumínio, em pH de 7,0. A) cultura de microalgas precedida da adição do coagulante; B) flocos formados após o mecanismo de coagulação-floculação; C) flocos sedimentados no fundo dos jarros.

Após os testes de jarros realizados para todos os coagulantes, em diferentes faixas de pH, foram obtidos os diagramas de coagulação, apresentados na **Figura 24**. Em uma escala de cinza, as faixas mais claras representam os menores valores de turbidez, enquanto as faixas mais escuras apresentam os maiores valores de turbidez remanescente.



**Figura 24:** Diagramas de coagulação estabelecidos a partir dos testes de jarros realizados para os diferentes coagulantes (n=2).

Com base nos resultados dos diagramas obtidos a partir dos testes de jarros, foi possível determinar os maiores valores de remoção para menores doses de coagulante, de acordo com a **Tabela 11**.

**Tabela 11:** Doses e valores de pH ótimos e suas respectivas eficiências de remoção de BMA para cada polímero avaliado, por meio do processo de coagulação-floculação seguido de sedimentação.

Coagulante	pH	Dose (mg/L)	Eficiência de remoção (%)
Sulfato de alumínio	7,0	50,0	95,9
Amido Catiônico	10,0	80,0	92,5
Tanino modificado	9,0	100,0	95,6
Pó de sementes de moringa ( <i>M. oleífera</i> )	5,0	150,0	85,8
Goma de quiabo ( <i>H. esculentus</i> )	5,0	100,0	80,3

A partir da análise dos resultados apresentados neste estudo e na literatura pertinente, pode-se inferir que o sulfato de alumínio é eficiente na recuperação de BMA nas faixas neutra e ácida de pH, para doses inferiores a 80 mg/L. O sulfato de alumínio propiciou recuperações de 60 a 70%, para dosagens maiores que 80 mg/L, na faixa de pH observada no crescimento da BMA associada ao efluente anaeróbico. Eficiências maiores que 90% foram obtidas aplicando-se doses maiores que 50 mg/L, em pH neutro, o qual não se encontra dentro da faixa operacional de pH para microalgas. Em pesquisa de Teixeira *et al.* (2012) foram obtidas recuperações de biomassa a partir de *C. vulgaris* em meio WC, de 93,8%, aplicando uma dose de 1000 mg/L de sulfato de alumínio, em pH de 9,24. Gerde *et al.* (2014) utilizaram sulfato de alumínio para recuperar *Scenedesmus sp.*, em meio sintético, em pH ajustado entre 8,5 e 9,5. Foram requeridas doses de 250 mg/L para obter 90% de remoção de *Scenedesmus sp* por meio de coagulação-floculação. Os dados apresentados na literatura pertinente corroboram os resultados encontrados neste estudo, uma vez que uma alta eficiência de remoção de BMA é requerida utilizando-se dosagens maiores de sulfato de alumínio para o processo de coagulação-floculação em pH mais elevado.

Para doses maiores que 80 mg/L de tanino modificado foram obtidas eficiências de recuperação maiores que 80%, considerando a faixa de pH nas condições ótimas deste estudo, ou seja, em pH entre 8 e 11. Resultados semelhantes foram obtidos para remoção da microalga *Microcystis aeruginosa*, cultivada em meio BG-11, utilizando coagulante de tanino modificado (Q-TN). Foram obtidas eficiências de

recuperação maiores que 90%, em uma faixa de pH entre 6 a 9 (WANG *et al.*, 2013). Em segundo estudo, foi obtida 97% de remoção de *Chlorella vulgaris*, cultivada em efluente de suinocultura, tratado por fitorremediação, utilizando 11 mg/L de tanino comercial modificado, em pH neutro (MEZZARI *et al.*, 2014). Em estudo para recuperar *C. vulgaris* e *Nannochloropsis oculata*, cultivadas em meio sintético, com pH de 8, as eficiências de remoção, para *C. vulgaris* foram de 99, 100 e 100%, para concentrações de 5, 15 e 45 mg/L, respectivamente. Em contrapartida, as eficiências de remoção de *Nannochloropsis oculata* foram de 92, 96 e 99% de remoção para concentrações de 5, 15 e 45 mg/L, respectivamente (ROSELET *et al.*, 2015). O efeito do pH nas condições deste estudo para as mesmas concentrações baixas de tanino modificado, de 5, 15 e 45 mg/L, as eficiências de remoção foram inferiores, entre 30 e 60%. Para valores de pH de aproximadamente 8, a recuperação de BMA oriunda de lagoa de alta taxa, a qual trata efluente doméstico, foram obtidas recuperações de biomassa maiores que 90%, utilizando doses de 50 mg/L de tanino modificado Tanfloc® SG (GUIÉRREZ *et al.*, 2015). Em contrapartida, nas mesmas condições do estudo de Gutiérrez *et al.* (2015), foram estabelecidas, neste estudo, eficiência de 96,7% de BMA em efluente de UASB, utilizando tanino modificado Tanfloc® POP. A partir da análise dos resultados apresentados neste estudo e na literatura pertinente, pode-se inferir que o tanino modificado é eficiente na recuperação de BMA nas faixas neutra e ácida de pH, para doses inferiores a 80 mg/L.

Com relação ao efeito do pH na recuperação de BMA utilizando-se amido catiônico, os dados demonstraram que para dosagens entre 80 e 150 mg/L do polímero, foi possível estabelecer eficiências de remoção acima de 80%, para uma faixa ampla de pH, entre 7 e 11. Dois tipos de Amido Catiônico (GREENFLOC® 120 e CARGILL C\*BOND HR 35.849) foram testados para a recuperação de *Parachlorella sp.* e *Scenedesmus sp.* em estudo de Vandamme *et al.* (2010). Considerado a faixa de pH entre 7 e 8, o GREENFLOC® 120 foi mais eficiente do que o CARGILL C\*BOND HR 35.849, para ambos os gêneros de microalgas. A eficiência de remoção foi maior que 80 %, com doses variando de 20 a 40 mg/L e de 5 mg/L para *Parachlorella sp.* e *Scenedesmus sp.*, respectivamente, o que corrobora com os resultados de eficiência de remoção de BMA encontrados neste estudo, para a mesma faixa de dosagem e pH. Gerde *et al.* (2014) também utilizaram dois tipos de amido catiônico (DS02 e DS05) para recuperar *Scenedesmus sp.* e *Chlamydomonas reinhardtii*, em meio

sintético, em pH ajustado entre 8,5 e 9,5. O gênero *Scenedesmus sp.* requereu 20 mg/L de DS5 para obter 90% de remoção. Já a espécie *C. reinhardtii* demandou aproximadamente 40 mg/L de DS2 e 20 mg/L de DS5 para obtenção de 85 e 90% de remoção, respectivamente. Amidos de batata catiônicos modificados foram utilizados em experiências de floculação em culturas de *Scenedesmus dimorphus* em estudo de Hansel *et al.* (2014). Os resultados demonstraram que todos os amidos catiônicos foram altamente eficazes e as melhores eficiências de remoção, superiores a 95 %, foram obtidas para todos os amidos utilizados ao nível de dosagem de 10 mg/L.

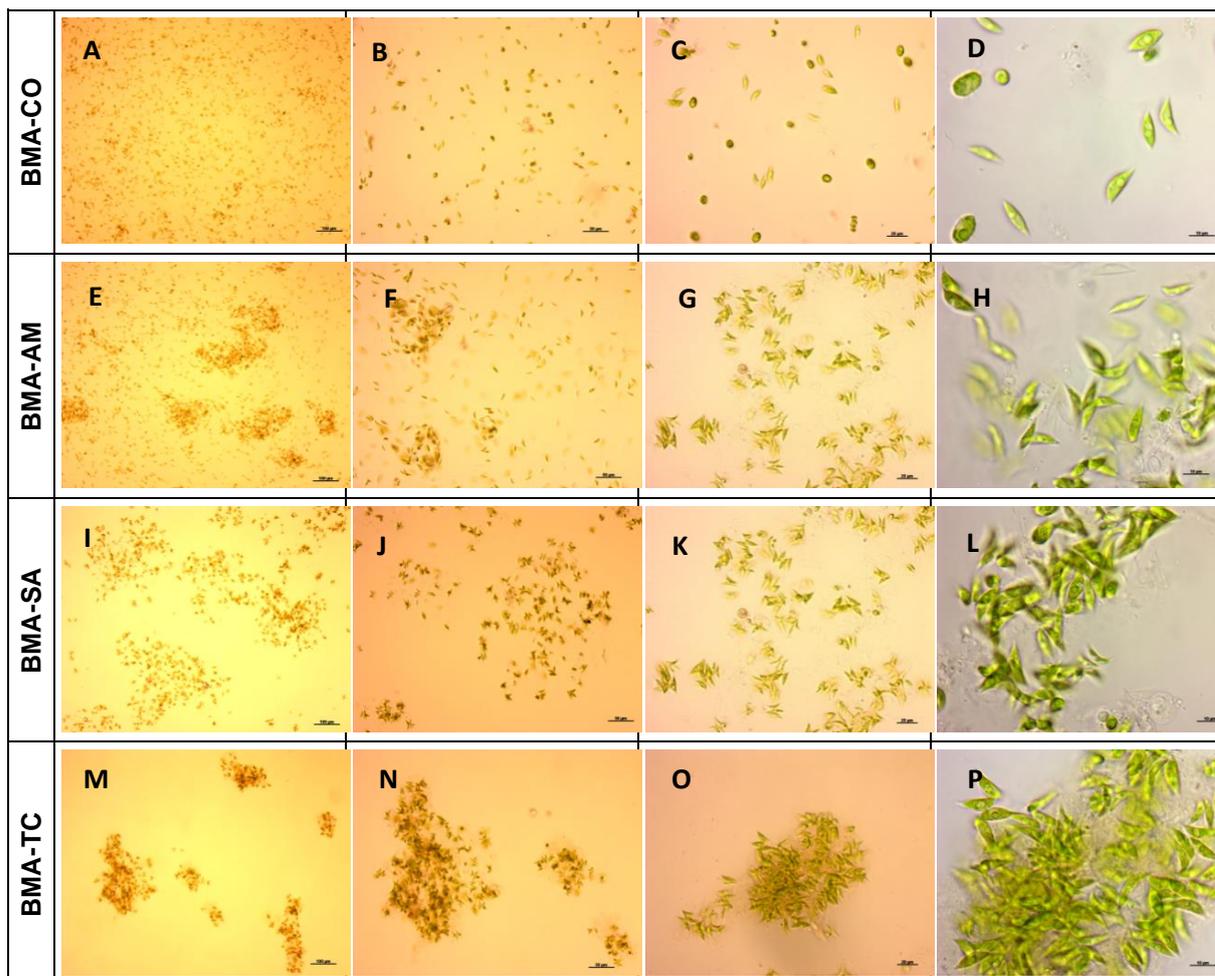
Segundo Vandamme *et al.* (2010), no amido catiônico a carga positiva se deve a sais de amônio quaternários introduzidos no processo de fabricação, que são capazes de manter sua carga positiva mesmo em valores de pH elevados, além de poder ocorrer a autofloculação das células em pH maior ou igual a 10, o que pode ter promovido o aumento na eficiência da recuperação da BMA em pH elevado. Além disso, segundo os mesmos autores, a eficiência na floculação por floclulantes polieletrólíticos, como os amidos catiônicos e os taninos modificados, também pode estar relacionada com o grau de substituição de grupos quaternários e o local das substituições e o peso molecular dos polímeros.

A recuperação de BMA com o uso de pó de sementes de *M. oleífera* não foi satisfatória em relação à faixa de pH alcalina em concordância com os valores de crescimento de BMA. A máxima eficiência de remoção, de aproximadamente 80%, foi atingida apenas ajustando-se o pH em faixa ácida (4 a 5), aplicando-se doses de 100 a 150 mg/L do coagulante. Teixeira *et al.* (2012) atingiram eficiências de 88,6% de remoção de *C. vulgaris* cultivada em meio WC, em pH ajustado em 9,2, a uma dose de 1000 mg/L do pó de *M. oleífera*, embora o tempo de sedimentação estabelecido seja de 2 horas. Vale observar que a concentração e o tempo de sedimentação selecionados foram muito superiores aos utilizados neste trabalho. Hamid *et al.* (2014) obtiveram eficiências maiores que 95% de remoção de *Chlorella sp.*, embora a microalga seja cultivada em meio basal Bold, em valores de pH de aproximadamente 6, com concentração entre 30 e 30 mg/L de semente de moringa em pó e tempo de sedimentação também de 2 horas.

A eficiência de remoção de microalgas fazendo o uso de polímeros extraídos do quiabo (*H. esculentus*), como pode-se perceber pelo diagrama de coagulação e pelo gráfico de eficiência de recuperação da BMA (Anexo II), não foi satisfatória para a faixa alcalina de pH, conforme o crescimento de biomassa no FBR. Em valores de pH em torno de 4 e 5, e foram atingidas eficiências de, no máximo, 80%. Estudos de recuperação de BMA em efluentes de tratamento de esgoto doméstico ainda não foram relatados, de acordo com a revisão bibliográfica realizada. Contudo, pode-se verificar estudos de remoção de sólidos e de turbidez de esgotos doméstico bruto e tratado a partir do quiabo (PRANNE *et al.*, 2011).

Em trabalho de Anastasakis *et al.* (2009), foram atingidas eficiências de remoção de 70 a 74% da turbidez de efluente tratado biologicamente, com dosagem de apenas 2,5 mg/L de polímeros extraídos das sementes do quiabo, em pH de 6,09. Em contrapartida, Agarwal *et al.* (2001) atingiram eficiência de 86% de remoção de sólidos suspensos em efluente doméstico bruto, com apenas 0,12 mg/L de goma extraída do quiabo, em pH neutro.

Em relação às características das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino, de amido de mandioca e de sulfato de alumínio, e de BMA sem adição de coagulante para servir de controle, denominadas por BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO, respectivamente, foi possível realizar a análise microscópica para os coagulantes testados apresentada na **Figura 25** (microscopia de luz) e **Figura 26** (microscopia eletrônica de varredura).



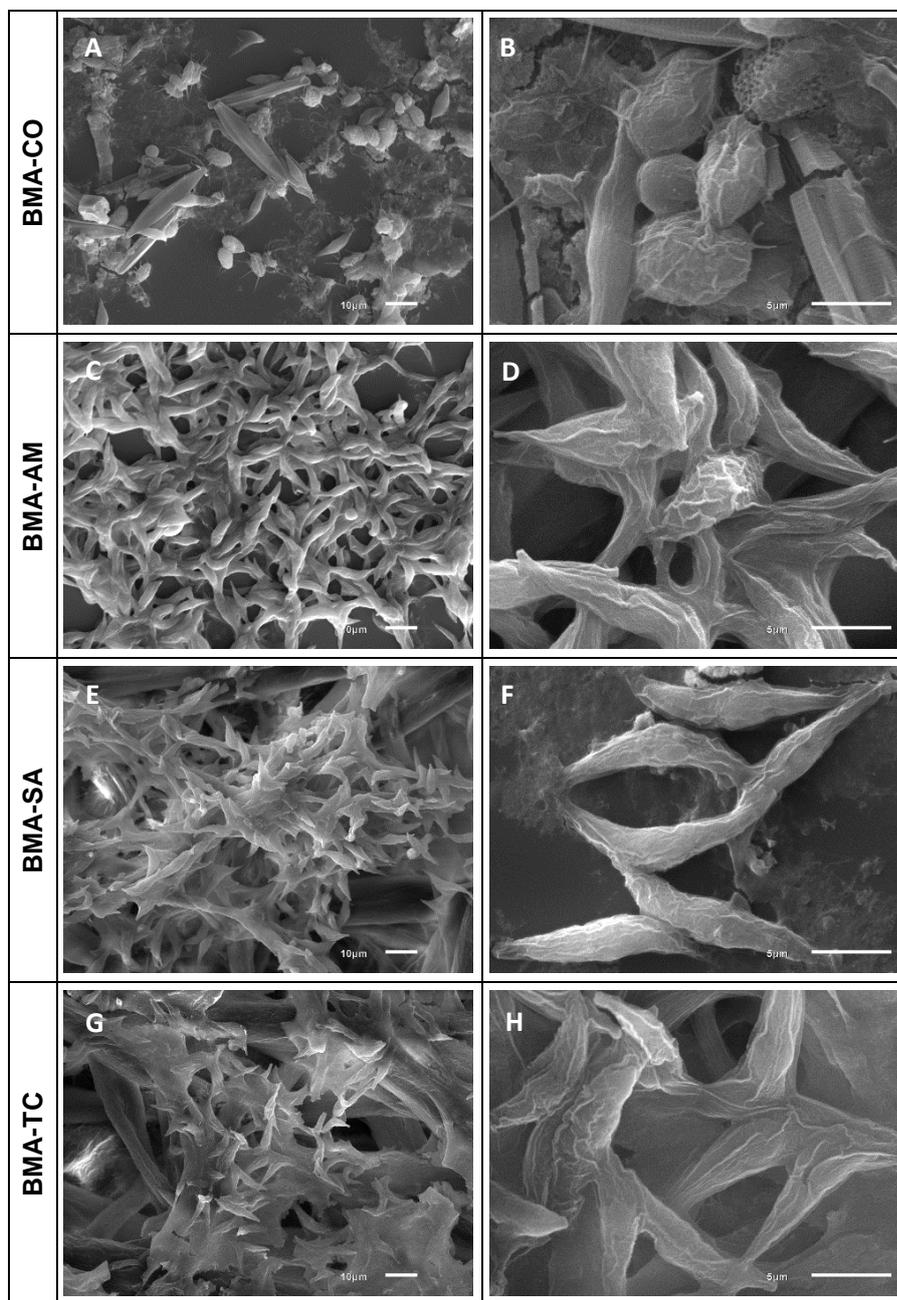
**Figura 25:** Imagens de microscopia óptica para avaliação do efeito dos coagulantes na biomassa de microalgas. Amostra controle sem adição de coagulante (A, B,C,D); Amostra tratada com 80 mg/L de amido catiônico (E,F,G,H); Amostra tratada com 80 mg/L de Sulfato de Alumínio (I, J, K, L) e amostra tratada com tanino modificado (M, N, O, P). Barra de escala: 100  $\mu$ m, 50  $\mu$ m, 20  $\mu$ m e 10  $\mu$ m respectivamente.

As microalgas do tratamento controle apresentaram características morfológicas com estreita semelhança com o gênero *Chlorella sp.* (esféricas) e *Scenedesmus sp.* (alongadas ou tubulares). As células individuais estão na faixa de 10 a 15  $\mu$ m e não foram observados agregados celulares para a amostra controle. Para as demais amostras que tiveram adição dos coagulantes, nota-se nas imagens de microscopia de luz uma redução da estabilidade do coloide algal demonstrado pela nítida aglomeração das células, que pode ser observado nas imagens de menor aumento em que os precipitados são mais definidos (**Figura 25-E**, **Figura 25-I** e **Figura 25-M**). Para os três coagulantes nota-se que os precipitados apresentam apenas células com formato alongado (*Scenedesmus sp.*), demonstrando este tipo de célula é mais susceptível a coagulação do que as células do gênero *Chlorella sp.* (esféricas), visto

que estas não são observadas nos precipitados mostrados nas imagens de maior aumento (**Figura 25-H, Figura 25-L e Figura 25-P**). Dados da literatura relatam que a matéria orgânica extracelular (MOE) de culturas de microalgas atuam como polieletrólitos aniônicos e não iônicos (BERNHART & CLASEN, 1991) e tais biopolímeros secretados pelas algas em resposta a adição de eletrólitos no meio comportam-se como um auxiliar de coagulação (MA e LIU, 2002). Portanto, floculantes geralmente carregados positivamente são recomendados para neutralizar a carga negativa da superfície da célula das microalgas (GRANADOS *et al.*, 2012).

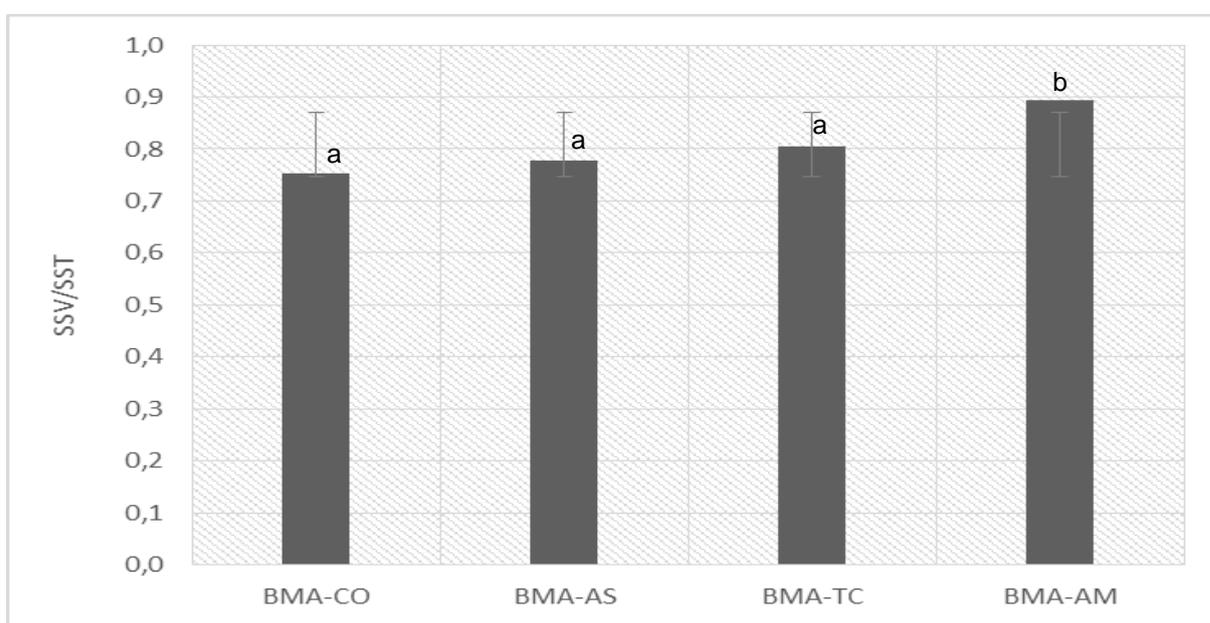
A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para fornecer informações adicionais sobre o processo de coagulação ao nível celular das microalgas e a **Figura 26** mostra a arquitetura da superfície celular por microscopia eletrônica. As células apresentam aspecto desidratado ou danificado provavelmente pelo processo de secagem necessário para este tipo de observação. Novamente é perceptível que nas amostras tratadas com os coagulantes não são encontradas células esféricas (*Chlorella sp.*) indicando que os flocos densos são na sua maioria formados por células do gênero *Scenedesmus sp.*, diferentemente da amostra controle, sem adição de coagulante (**Figura 26-A e Figura 26-B**) onde as células de *Chlorella sp.* apresentam-se dispersas no sistema. No detalhe das imagens de maior aumento (**Figura 26-D, Figura 26-F e Figura 26-H**) nota-se alterações na morfologia das células que receberam algum tipo de eletrólito (precipitados) em relação as células do tratamento controle (**Figura 26-B**). Estes precipitados obviamente podem alterar as propriedades das membranas das algas, visto que com a interação dos eletrólitos além de um significativo aumento do peso há redução da sua estabilidade e conseqüentemente alterações no comportamento e funcionamento das células. Nota-se nas imagens que as células que receberam os eletrólitos possuem um aspecto mais danificado ou desidratado que pode ser explicado pela perda de água para o meio circundante pela estimulação provocada pela adição dos eletrólitos, fato esse também observado por Ma & Liu (2002). Embora seja perceptível alterações na parede celular das microalgas que receberam adição de coagulantes, não foram notadas rupturas nas células. Lee *et al.* (2012) relataram que as paredes celulares de microalgas são formadas por três camadas que incluem polissacáridos tais como celulose, proteínas e outros. Estes materiais formam estruturas de parede celular resistentes, o qual é três vezes mais forte do que a de células de plantas (ALLARD *et*

*al.*, 2002). Esta informação pode indicar a preservação do conteúdo lipídico no processo de coagulação-floculação das microalgas, embora torne a degradação das células em sistemas de digestão anaeróbia para produção de biogás devido à resistência da parede celular (SIALVE *et al.*, 2009; ANTHONY *et al.*, 2013).



**Figura 26:** Imagens de microscopia eletrônica de varredura para avaliação do efeito dos coagulantes na biomassa de microalgas. Amostra controle sem adição de coagulante (A, B); Amostra tratada com 80 mg/L de amido catiônico (C, D); Amostra tratada com 80 mg/L de Sulfato de Alumínio (E, F) e amostra tratada com tanino modificado (G, H). Barra de escala 10 µm e 5 µm respectivamente.

Em relação às características das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura* (controle), foi possível estabelecer as relações SSV/SST para cada biomassa recuperada após ensaios de coagulação-floculação no teste de jarros, em pH ajustado em  $8,0 \pm 0,05$  e a uma concentração de 80 mg/L de cada coagulante. Pela relação SSV/SST, é possível estabelecer a biodegradabilidade da biomassa recuperada, a qual, segundo Andreoli *et al.* (2001), para biomassa bruta, varia entre 0,75 e 0,80. A **Figura 27** apresenta as relações SSV/SST obtidas.

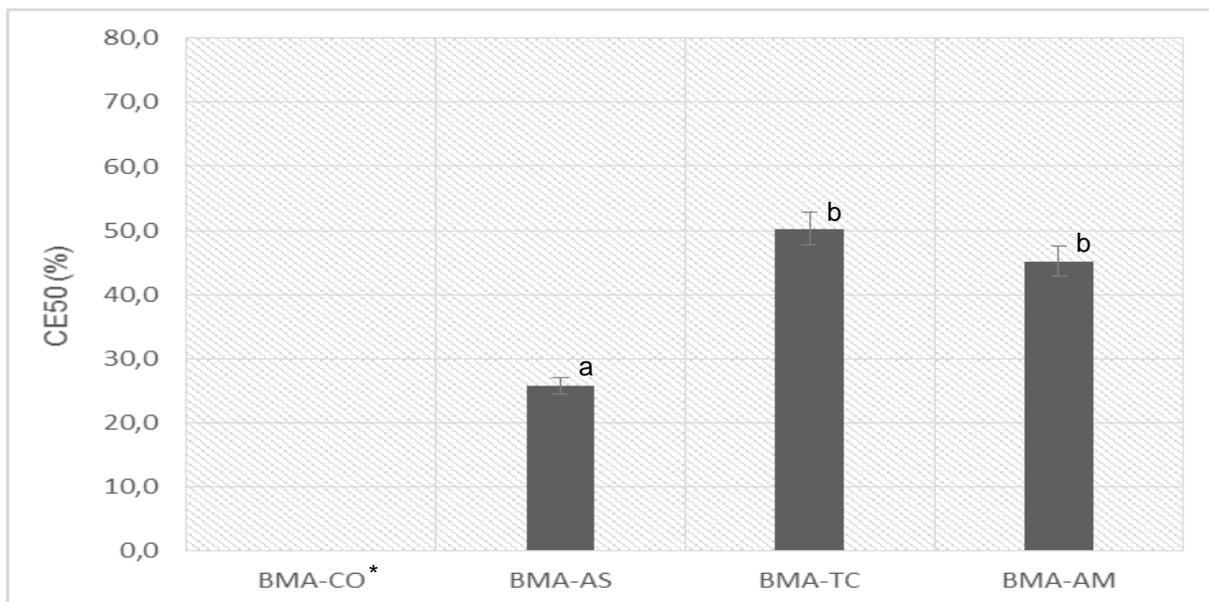


**Figura 27:** Relação SSV/SST das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, denominadas por BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO, respectivamente (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Pode-se observar que a biodegradabilidade das BMAs recuperadas a partir do sulfato de alumínio e do tanino modificado possuem relações SSV/SST similares, as quais se mostraram inferiores à relação SSV/SST obtida para a recuperação de BMA a partir do amido catiônico. É importante observar também que a biomassa recuperada a partir do uso de amido catiônico apresentou maior biodegradabilidade em relação às biomassas recuperadas a partir do uso de sulfato de alumínio e de tanino modificado. A biodegradabilidade obtida a partir do uso de amido catiônico, aproximadamente de 0,9, é superior à faixa indicada por Andreoli *et al.* (2001) para inferir boa biodegradabilidade da biomassa.

Coagulantes orgânicos, principalmente à base de amidos, devido aos seus teores de carbono e à alta biodegradabilidade, contribuem com um substrato adicional para a produção de biocombustível a partir da digestão anaeróbia da BMA recuperada devido à sua alta biodegradabilidade, como observado na **Figura 27** (PAL *et al.*, 2005). Embora eficaz, o uso de amidos catiônicos, sintetizados tradicionalmente a partir de amônio, como coagulantes na recuperação de microalgas, assim como o amido utilizado neste trabalho, pode ocasionar um impacto negativo sobre o ambiente e sobre os processos subsequentes do processo de geração de biocombustível, como toxicidade e propriedades antibacterianas no processo de digestão anaeróbia da BMA (OHTA *et al.* 2008). A produção de biogás é, no campo do tratamento de efluentes, a opção mais vantajosa para a valorização de BMA. A digestão anaeróbia tem uma longa tradição no tratamento de efluentes e essa especialidade justifica o uso de microalgas para esse propósito. Ainda assim, a recuperadas de BMA com coagulação-floculação e sedimentação, requer evidentemente que o coagulante deve ser não tóxico e não possa inibir o processo de digestão anaeróbica (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015). A ecotoxicidade das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura* (controle), foi avaliada em relação ao valor de  $CE_{50}$ , os quais estão apresentados no gráfico da **Figura 28**.

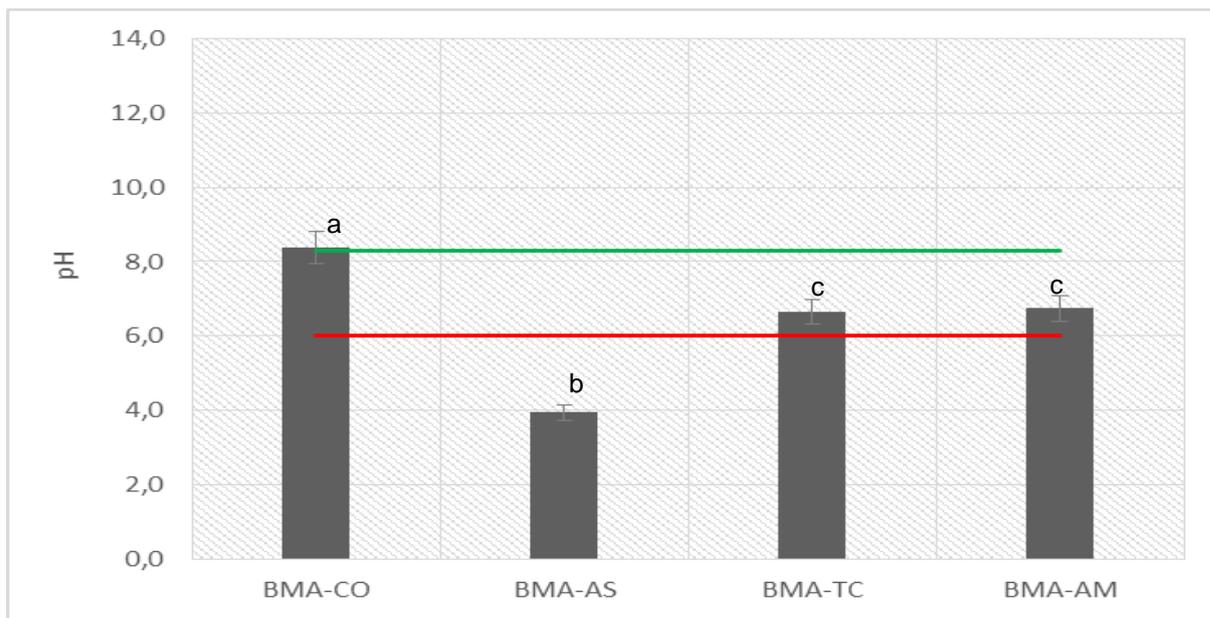
Pode-se constatar que a biomassa recuperada a partir do sulfato de alumínio apresentou menores valores de  $CE_{50}$ , ou seja apresentou maior concentração de amostra de BMA recuperada com esse coagulante para provocar uma diminuição de 50% na luz emitida pelas bactérias *Vibrio fischeri*. Os polímeros orgânicos naturais à base de tanino e amido valores de  $CE_{50}$  similares, os quais foram aproximadamente 50% maiores que o valor apresentado para a BMA-AS. Visto isso, pode-se atestar que a biomassa recuperada a partir do uso de amido catiônico e tanino modificado é menos tóxica comparada à biomassa recuperada a partir do uso do sulfato de alumínio como coagulante.



**Figura 28:** Valores de  $CE_{50}$ , para o teste agudo, com tempo de contato com a amostra de 15 minutos encontrados, para as BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey. \*Não foi detectada toxicidade pelo teste agudo em Microtox®.

Estudo de Anthony et al. (2013) analisou a digestibilidade de compostos orgânicos separados a partir de águas residuais, utilizando-se sulfato de alumínio e cloreto férrico como coagulantes, os quais afetaram a digestibilidade anaeróbia de compostos orgânicos recuperados. O elevado teor de alumínio encontrado em BMA também tem provado ser tóxico para animais quando utilizada como um componente orgânico na fabricação de ração (ANTHONY *et al.*, 2013). A não toxicidade e a boa biodegradabilidade de taninos modificados foram atestadas em recente trabalho, no qual ambos os coagulantes não mostraram efeito na digestão anaeróbia da BMA recuperada (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015). Nesse mesmo estudo, Gutiérrez *et al.* (2015) verificaram que os coagulantes testados se mostraram não corrosivos e o pH remanescente da biomassa recuperada se encontrava dentro da faixa ótima para digestão anaeróbia, a qual varia de 6 a 8,3, o que favorece a digestão anaeróbia da biomassa recuperada (ZAMOLLA *et al.*, 2011).

Os pHs remanescentes das BMAs recuperadas, BMA-TC, BMA-AM e BMA-AS, e da biomassa controle, BMA-CO, estão apresentados no gráfico da **Figura 29**.



**Figura 29:** Valores de pH remanescente das BMAs recuperadas a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e da BMA *in natura*, BMA-TC, BMA-AM, BMA-AS e BMA-CO (n=3). Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey. As barras vermelha e verde representam a faixa de pH adequado, respectivamente, para digestão anaeróbia (ZAMOLLA *et al.*, 2011).

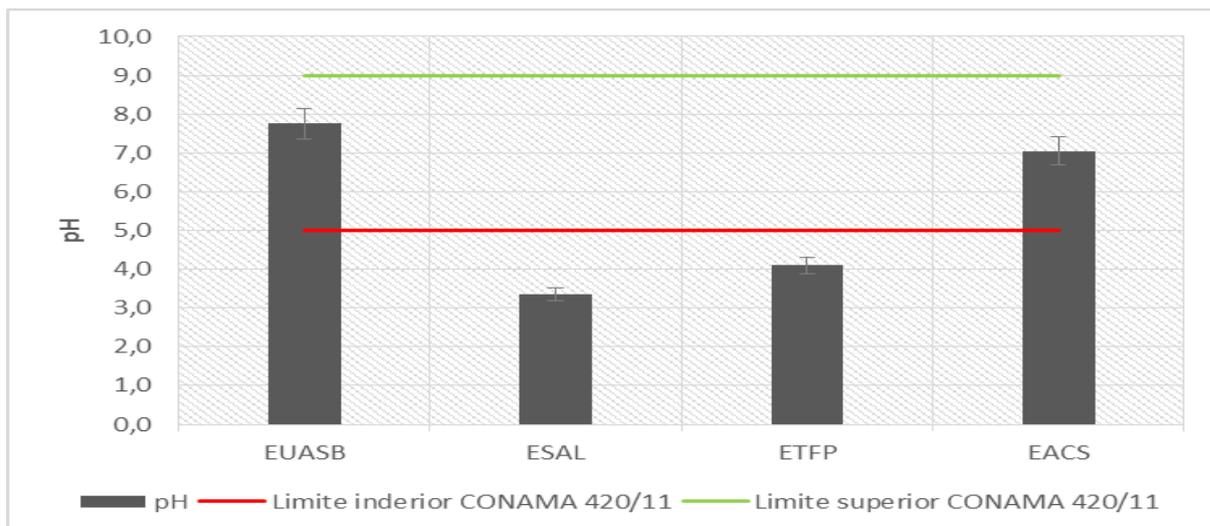
Pode-se constatar que a biomassa controle é favorável para a utilização da BMA controle em sistemas de digestão anaeróbia, em relação ao pH observado. Pode-se observar também que a biomassa remanescente da recuperação de BMA a partir de sulfato de alumínio não demonstra favorável em processos de digestão anaeróbia quando observado o baixo pH verificado nas amostras recuperadas. O amido catiônico e o tanino modificado, além de apresentarem BMAs recuperadas com boa biodegradabilidade e baixa ecotoxicidade, também apresentaram vantagens em relação aos valores pH remanescentes, os quais, segundo Zamolla *et al.* (2011), se encontram na faixa ótima para digestão anaeróbia.

A qualidade dos efluentes finais, após a recuperação da BMA, pelos coagulantes sulfato de alumínio (ESAL), tanino modificado (ETFP) e amido de mandioca catiônico (EACS) e do efluente UASB (EUASB) utilizado para crescimento das microalgas, foi caracterizada conforme parâmetros apresentados na **Tabela 12**.

**Tabela 12:** Médias ( $\bar{x}$ ) e coeficientes de variação (CV%) dos principais parâmetros de avaliação dos efluentes UASB (EUASB) utilizado para crescimento das microalgas e dos efluentes após a remoção da biomassa pelos coagulantes sulfato de alumínio (ESAL), tanino modificado (ETFP) e amido de mandioca catiônico (EACS). Letras diferentes na linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Parâmetro Físico-químico	EUASB		ESAL		ETFP		EACS	
	$\bar{x}$	CV(%)	$\bar{x}$	CV(%)	$\bar{x}$	CV(%)	$\bar{x}$	CV(%)
pH	7,8 <sup>a</sup>	0,5	3,4 <sup>b</sup>	4,0	4,1 <sup>b</sup>	14,8	7,1 <sup>a</sup>	1,2
Alcalinidade Total (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	207 <sup>a</sup>	2,4	15 <sup>b</sup>	11,9	15 <sup>b</sup>	24,7	21 <sup>b</sup>	9,1
DQO (mg/L O <sub>2</sub> )	66 <sup>a</sup>	9,1	43 <sup>b</sup>	2,4	45 <sup>b</sup>	7,0	21 <sup>c</sup>	4,8
DBO (mg/L O <sub>2</sub> )	110 <sup>a</sup>	7,6	21 <sup>b</sup>	29,0	21,5 <sup>b</sup>	8,4	11 <sup>b</sup>	13,2
Fósforo Total (mg/L)	9,8 <sup>a</sup>	1,4	1,3 <sup>b</sup>	22,5	1,4 <sup>b</sup>	7,5	0,9 <sup>b</sup>	5,1
Ortofosfatos (mg/L)	4,7 <sup>a</sup>	9,9	0,8 <sup>b</sup>	5,3	0,5 <sup>b</sup>	5,7	0,9 <sup>b</sup>	3,2
Nitrogênio Total (mg/L)	37,2 <sup>a</sup>	6,0	3,6 <sup>bc</sup>	20,8	5,4 <sup>b</sup>	15,7	1,8 <sup>c</sup>	15,6
Nitrogênio Amoniacal (mg/L)	10,0 <sup>a</sup>	2,8	1,6 <sup>b</sup>	17,3	4,1 <sup>c</sup>	25,0	1,3 <sup>b</sup>	21,7

A partir da análise dos principais parâmetros físico-químicos, pode-se inferir que o pH dos efluentes (sobrenadantes) variou significativamente a partir da remoção de biomassa, os quais se encontraram na faixa mais ácida, exceto na remoção a partir do amido catiônico, que proporcionou um efluente com pH em torno da neutralidade. A utilização dos coagulantes sulfato de alumínio e tanino modificado ocasionou a diminuição do pH dos efluentes pós-sedimentação da BMA de modo que estes se encontraram fora do padrão de lançamento de efluentes estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011, conforme apresentado no gráfico da **Figura 30**.



**Figura 30:** Valores de pH dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, ETFP, EACS, ESAL e EUASB (n=3). As barras vermelha e verde representam os limites inferior e superior de pH, respectivamente, estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.

O tratamento anaeróbico de efluentes domésticos ainda apresenta grande quantidade de fósforo e nitrogênio, os quais são os principais responsáveis pela eutrofização dos corpos d'água que recebem esses efluentes (FAKIR *et al.*, 2011). Visto isso, os resultados das caracterizações físico-químicas apresentados ilustram uma das grandes vantagens do crescimento de BMA em efluentes de tratamento anaeróbico de esgotos, uma vez que o crescimento da BMA representa um tratamento terciário de esgoto, com a remoção de fósforo e nitrogênio. Sabendo-se da habilidade das microalgas na captura de carbono, nitrogênio e fósforo, as microalgas apresentam um potencial tratamento para vários tipos de efluentes, principalmente os efluentes de tratamentos anaeróbicos de esgoto doméstico (FAKIR *et al.*, 2011).

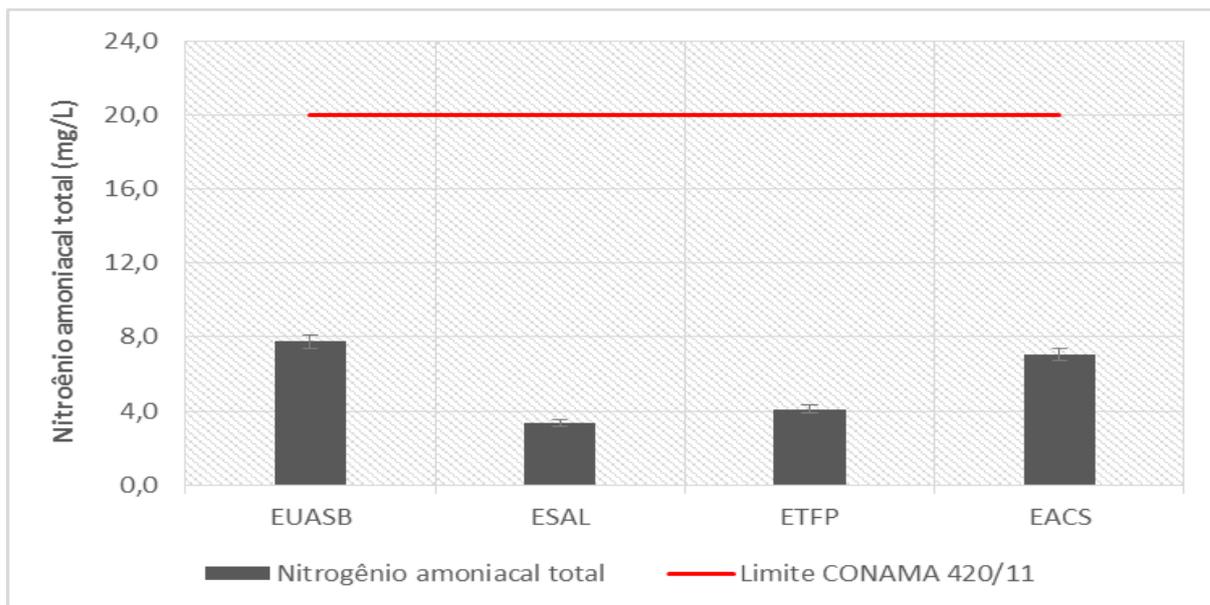
A remoção de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, foi significativa em relação ao efluente de UASB. As remoções de fósforo total e nitrogênio total foram mais eficientes utilizando-se o amido catiônico como coagulante, as quais foram de 90,64% e 95,14%, respectivamente. A remoção de nutrientes, observada ao final dos tratamentos, está relacionada à assimilação desses nutrientes tanto pela BMA quanto pelas demais biomassas associadas, como os fungos e as bactérias. Em recente estudo, espécies de microalgas de água doce, *Chlorella kessleri* e *Chlorella vulgaris*, foram cultivadas em efluente de esgoto doméstico e ambas as espécies demonstraram alta taxa de

crescimento e potencial remoção de nutrientes, quando cultivadas em batelada em FBR de placas planas. As espécies promoveram reduções da concentração de nitrogênio em torno de 96% e 95%, e uma redução da concentração de fósforo em torno de 99% e 98%, respectivamente (CAPORGNO *et al.*, 2015), as quais foram similares às encontradas nesse trabalho.

A redução de nitrogênio amoniacal nos efluentes finais em relação ao meio de cultivo (EUASB) também foi observada, a qual foi mais acentuada pela utilização do amido catiônico como coagulante, resultando em reduções de até 86,9%. Contudo, vale ressaltar que a redução de nitrogênio amoniacal já havia se mostrado acentuada nas culturas de BMA, quando comparadas as concentrações de nitrogênio amoniacal observadas na entrada do sistema (EUASB) e ao final do cultivo da BMA, em função da assimilação de íons  $\text{NH}_4^+$  e da provável volatilização de amônia.

Em contrapartida, é possível notar também a ocorrência de uma pequena redução de nitrogênio amoniacal nos efluentes pós-sedimentação em relação à cultura de BMA utilizada nos testes de coagulação. Essa redução pode ter ocorrido devido à precipitação de proteínas liberadas pelas microalgas como sais de amônio, ocasionada pela presença de íons  $\text{NH}_4^+$  no meio, forma nitrogenada encontrada no meio aquoso devido à redução do pH das culturas, de 11 para 8, ocorrido pela adição dos coagulantes (ZAIA *et al.*, 1998).

Em função da redução de nitrogênio amoniacal ao final do tratamento realizado, os efluentes finais apresentaram concentrações de nitrogênio amoniacal dentro dos limites de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011, conforme apresentado no gráfico da **Figura 31**.



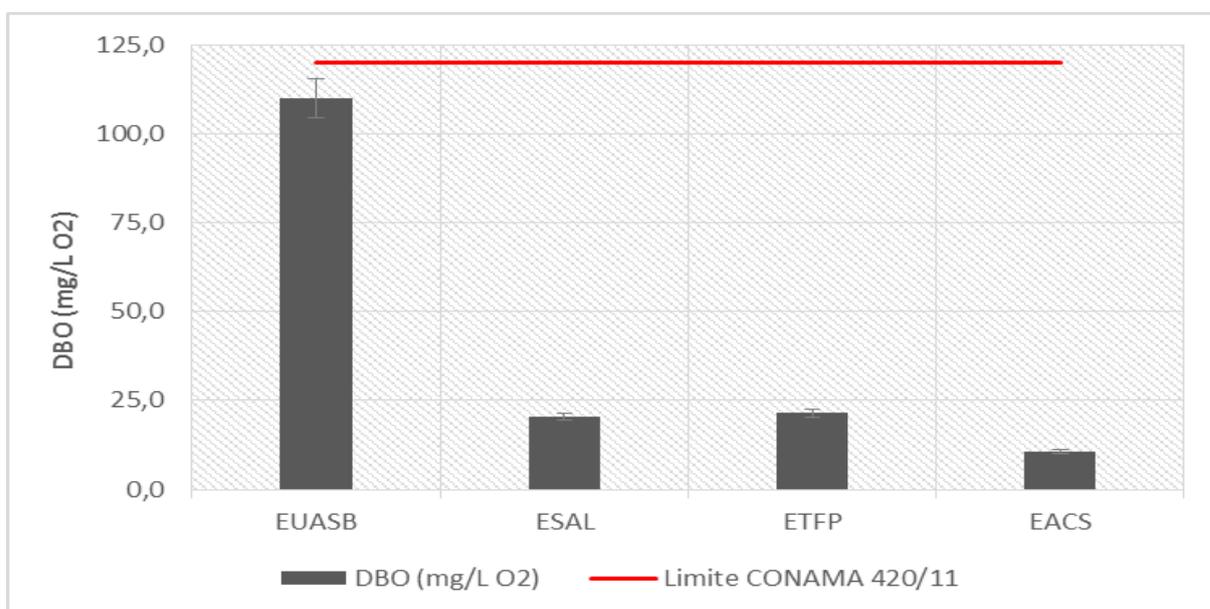
**Figura 31:** Valores de nitrogênio amoniacal total dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, ETFP, EACS, ESAL e EUASB. A barra vermelha representa o limite de concentração de nitrogênio amoniacal total, estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.

Um aspecto interessante observado foi a diminuição das demandas químicas e bioquímicas de oxigênio (DQO e DBO) de, em média, 44% e 84%, respectivamente, em relação ao efluente de entrada (EUASB), sendo que as remoções obtidas em cada tratamento não variaram entre si, salvo a remoção de DQO a partir da remoção com amido catiônico, a qual foi consideravelmente maior em relação ao EUASB e em relação às remoções de DQO a partir do sulfato de alumínio e do tanino modificado. A remoção de DBO e DQO observada na **Tabela 12** pode estar relacionada à remoção do material orgânico suspenso e dissolvido, de carga negativa, presentes no EUASB, além das células microalgáceas e dos demais microrganismos associados ao EUASB, diminuindo assim a demanda, principalmente química, de oxigênio.

Em função da remoção de DBO ao final do tratamento realizado, os efluentes finais apresentaram demandas biológicas de oxigênio dentro dos limites de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011, conforme apresentado no gráfico da **Figura 32**.

Em recente estudo foram avaliados os potenciais de remoção de nitrogênio amoniacal, de ortofosfatos e de DQO por BMA cultivada em efluente primário da

indústria de beneficiamento de carnes em fotobiorreator de coluna de bolhas. Ao final de, aproximadamente, 10 (dez) dias de crescimento da BMA, foram observadas remoções de 87, 33 e 53% de nitrogênio amoniacal, ortofosfatos e DQO, respectivamente (TANGO, 2015). Os resultados encontrados no trabalho de Tango corroboram as remoções encontradas no presente estudo, embora a remoção de ortofosfatos encontrada neste trabalho tenha sido mais elevada, em média de 85%.



**Figura 32:** Valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) dos efluentes pós-sedimentação da BMA a partir da utilização dos coagulantes à base de tanino modificado e de amido de mandioca, a partir do sulfato de alumínio e do efluente de reator UASB utilizado para crescimento da biomassa, ETFP, EACS, ESAL e EUASB. A barra vermelha representa o limite de concentração de DBO, estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011, para lançamento de efluente.

## 6 CONCLUSÕES

Para valores de pH entre 8 e 11, o amido catiônico e o tanino modificado proporcionaram eficiências de remoção de BMA maiores que 90%, com dosagens de aproximadamente 80 e 100 mg/L, respectivamente.

O sulfato de alumínio apresentou eficiências de remoção entre 60 e 80% para dosagens entre 100 e 150 mg/L, considerando a faixa básica de pH. Os polímeros à base das sementes de *Moringa Oleifera* e da goma de quiabo (*Hibiscus esculentus*) promoveram apenas remoções de, em média, 50% de remoção de biomassa, na faixa ácida de pH.

A biomassa recuperada a partir do uso de amido catiônico apresentou maior biodegradabilidade em relação às biomassas recuperadas a partir do uso de sulfato de alumínio e de tanino modificado. A biomassa recuperada a partir do sulfato de alumínio (BMA-AS) apresentou maiores valores de  $CE_{50}$ , enquanto a BMA recuperada a partir dos polímeros orgânicos naturais à base de tanino e amido apresentaram valores de  $CE_{50}$  similares, os quais foram aproximadamente 50% maiores que o valor apresentado para a BMA-AS.

Em relação ao efluente de entrada (EUASB), a alcalinidade dos efluentes finais apresentou diminuição em média de 91%. Os coagulantes sulfato de alumínio e tanino modificado ocasionaram a diminuição do pH dos efluentes pós-sedimentação da BMA de modo que estes se encontraram fora do padrão de lançamento de efluentes estabelecido pela Resolução CONAMA 430 de 2011. A diminuição das demandas químicas e bioquímicas de oxigênio foram de, em média, 44% e 84%, respectivamente, em relação ao EUASB.

A remoção de DQO a partir da utilização do amido catiônico foi consideravelmente maior em relação ao EUASB e em relação às demais remoções de DQO a partir do sulfato de alumínio e do tanino modificado. Todos os efluentes finais apresentaram valores de DQO dentro dos padrões de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011.

As remoções de fósforo total e nitrogênio total foram mais eficientes utilizando-se o amido catiônico como coagulante, as quais foram de 90,64% e 95,14%, respectivamente. A redução de nitrogênio amoniacal nos efluentes finais em relação ao EUASB também foi observada, a qual foi mais acentuada pela utilização do amido catiônico como coagulante, resultando em reduções de até 86,9%. Em função da redução de nitrogênio amoniacal ao final do tratamento realizado, os efluentes finais apresentaram concentrações de nitrogênio amoniacal dentro dos limites de lançamento estabelecidos pela Resolução CONAMA 430 de 2011.

## 7 RECOMENDAÇÕES

- Aplicar os coagulantes testados em sistema de produção contínua de biomassa microalgácea crescida em efluente anaeróbio em escala piloto, com utilização de floculadores e sedimentadores lamelares.
- Realizar testes em sistemas automatizados de produção contínua de biomassa microalgácea crescida em efluente anaeróbio em escala piloto, com a utilização de floculadores e sedimentadores lamelares;
- Estudar a hidrólise da biomassa recuperada.

## 8 REFERÊNCIAS

AGARWAL, M.; SRINIVASAN, R.; MISHRA, A. (2001). **Study on Flocculation Efficiency of Okra Gum in Sewage Waste Water**. Macromolecular Materials Engineering. v.286, p.560-563.

AHMAD, A.L.; YASIN, N.H.M.; DEREK, C.J.C.; LIM, J.K. (2011). **Optimization of microalgae coagulation process using chitosan**. Chemical Engineering Journal. v.173, p.879-882.

ALLARD, B.; RAGER, M.N.; TEMPLIER, J. (2002). **Occurrence of high molecular weight lipids (C80+) in the trilaminar outer cell walls of some freshwater microalgae. A reappraisal of algaenan structure**. Organic Geochemistry. v.33, p.789-801.

AMIN, S. (2009). **Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae**. Energy conversion and Management. v.50, p.1834-1840.

ANASTASAKIS, K.; KALDERIS, D.; DIAMADOPOULOS, E. (2009). **Flocculation behavior of mallow and okra mucilage in treating wastewater**. Desalination. v.249, p.786-791.

ANDREOLI, C.V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (2001). **Lodo de esgoto: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 483 p.

ANTHONY, R.J.; ELLIS, J.T.; SATHISH, A.; RAHMAN, A.; MILLER, C.D.; SIMS, R.C. (2013). **Effect of coagulant/flocculants on bioproducts from microalgae**. Bioresource Technology. v.149, p.65-70.

APHA (2012). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association, Washington, DC.

ARANTES A.C.C., DZUMAN M.J., BOSA J.A. (2010). **Comparação de meios de cultivo autotróficos, mixotróficos e heterotróficos para produção de biomassa de microalgas com foco em biocombustíveis e co-produtos**. 5º Congresso Internacional de Bioenergia. Curitiba, PR, Brasil.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10005: **Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos**. Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 15411-1: **Ecotoxicologia aquática - Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri***. Rio de Janeiro, 2012.

BAPTISTA, A.T.A.; COLDEBELLA, P.F.; CARDINES, P.H.F.; GOMES, R.G.; Vieira, M.F.; Bergamasco, F.; Vieira, A.M.S. (2015). **Coagulation–flocculation process with ultrafiltered saline extract of *Moringa oleifera* for the treatment of surface water**. Chemical Engineering Journal. v.276, p.166-173.

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

BARRUT, B.; BLANCHETON, J.; MULLER-FEUGA, A.; RENÉ, F.; NERVÁEZ, C.; CHAMPAGNE, J.; GRASMICK, A. (2013). **Separation efficiency of a vacuum gas lift for microalgae harvesting**. Bioresource Technology. v.128, p.235-240.

BERNHART H, CLASEN J. (1991). **Flocculation of micro-organisms**. Journal of Water Supply: Research and Technology. v.40, p.76-87.

BREUER, G.; LAMERS, P.P.; MARTENS, D.E.; DRAAISMA, R.B.; WIJFFELS, R.H. (2012). **The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains**. Bioresource Technology. v.124, p.217-226.

BICUDO, C. E. de M.; MENEZES, M. **Gênero de algas continentais brasileiras (chave de identificação e descrição)**. São Carlos: RIMA. 2005. 508p.

CAPORGNO, M.P.; TALEB, A.; OLKIEWICZ, M.; FONT, J.; PRUVOST, J.; LEGRAND, J.; BENGUA, C. (2015). **Microalgae cultivation in urban wastewater: Nutrient removal and biomass production for biodiesel and methane.** *Algae Research*. v.10, p.232-239.

CASTRILLO, M.; LUCAS-SALAS, L.M.; RODRÍGUEZ-GIL, C.; MARTÍNEZ, D. (2013). **High pH-induced flocculation-sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*.** *Bioresource Technology*. v.128, p.324-329.

CERFF, M.; MORWEISER, M.; DILLSCHNEIDER, R.; MICHEL, A.; MENZEL, K.; POSTEN, C. (2012). **Harvesting fresh water and marine algae by magnetic separation: Screening of separation parameters and high gradient magnetic filtration.** *Bioresource Technology*. v.118, p.289–295.

CHANG, E.; YANG, S. (2003). **Some characteristics of microalgae isolated in Taiwan for biofixation of carbon dioxide.** *Botanical Bulletin of Academia Sinica*. v. 44, p. 43-52.

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

CHINNASAMY, S.; BHATNAGAR, A.; HUNT, R.W.; DAS, K.C. (2010). **Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mil effluents for biofuel applications.** *Bioresource Thecnology*. v.101, p.3097-3105.

CHONG, S.; SEM, T.K.; KAYAALP, A.; ANG, H.M. (2012). **The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - A State-of-the-art review.** *Water Research*. v.46, p.3434-3470.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. (2011). **Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts.** *Biotechnology Advances*. v.29, p.686-702.

COSTA, A.C.S.; FERREIRA, J.C.; SEIDEL, E.P.; TORMENA, C.A.; PINTO, J.C. **Perdas de nitrogênio por volatilização da amônia em três solos Argilosos tratados com uréia.** (2004). Acta Scientiarum. Agronomy. v.26, n.4, p.467-473.

COSTA, E.R.H. (1992). **Estudo do uso de polímeros naturais como auxiliares de floculação com base no diagrama de coagulação do sulfato de alumínio.** São Carlos. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

DI BERNARDO, L.; DI BERNARDO, A.; CENTUIONE FILHO, P.L. (2002) **Ensaio de Tratabilidade de Água e dos Resíduos Gerados em Estações de Tratamento de Água.** São Carlos: RIMA. 237 p.

DUANA, J.; GREGORY, J. (2003). **Coagulation by hydrolysing metal salts.** Advances in Colloid and Interface Science. v.100, p.475-502.

FERRARI, G.F. (2004). **Pós-tratamento do efluente de lagoa facultativa primária através da utilização de coagulantes metálicos e polímeros.** Vitória. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Espírito Santo.

FAKIR, K.; YAAKOB, K.; ALI, E.; ABDULLAH, S.R.S.; TAKRIFF, M.S. (2011). **An overview of microalgae as a wastewater treatment.** AMMAN, Jordan International Energy Conference.

FAROOQ, U.; MALVIYA, R.; SHARMA, P.K. (2013). **Extraction and Characterization of Okra Mucilage as Pharmaceutical Excipient.** Academic Journal of Plant Sciences. v.6, p.168-172.

FREITAS, T.K.F.S.; OLIVEIRAA, V.M.; SOUZA, M.T.F.; GERALDINO, H.C.L.; ALMEIDA, V.C.; FÁVAROB, S.L.; GARCIA, J.C. (2015). **Optimization of coagulation-flocculation process for treatment of industrial textile wastewater using okra (*A. esculentus*) mucilage as natural coagulant.** Industrial Crops and Products. v.76, p.538-544.

GARCÍA-PÉREZ, J.S.; BEUCKELS, A.; VANDAMME, D.; DEPRAETERE, O.; FOUBERT, I.; PARRA, R.; MUYLEAERT, K. (2014). **Influence of magnesium concentration, biomass concentration and pH on flocculation of *Chlorella vulgaris***. *Algal Research*. v.3, p.24-29.

GERDE, J.A.; YAO, L.; LIO, J.; WEN, Z.; WANG, T. (2014). **Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration**. *Algal Research*. v.3, p.30-35.

GONLÁLEZ-FERNANDÉZ, C.; SIALVE, B.; BERNET, N.; STEYER, J.P. (2011). **Impacto of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production**. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. v.6, p.205-218.

GRAHAM, J.M.; GRAHAM, L.E.; ZULKIFLY, S.B.; PFLEGER, B.F.; HOOVER, S.W.; YOSHITANI, J. (2012). **Freshwater diatoms as a source of lipids for biofuels**. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. v.39, p.417-428.

GRANADOS, M. R.; ACIEN, F.G.; GOMEZ, C.; FERNANDEZ-SEVILLA, J.M.; GRIMA, E.M. (2012). **Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae**. *Bioresource Technology*. v.118, p.102-110.

GREENWELL H.C.; LAURENS M.L.; SHIELDS, R.J.; LOVITT, R.W.; FLYNN K.J. **Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges**. *Journal of The Royal Society Interface*. v.7, p.703-726.

GRIMA, E. M.; BELARBIA, E.H.; FERNÁNDEZ, F.G.A.; MEDINAA, A.R.; CHISTI, Y. (2003). **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics**. *Biotechnology Advances*. v.20, p.557-577.

GUPTA, S.K.; KUMAR, M.; GULDHE A.; ANSARI, F.A.; RAWAT, I.; KANNEY, K.; BUX, F. (2014). **Design and development of polyamine polymer for harvesting microalgae for biofuels production**. *Energy Conversion and Management*. v.85, p.537-544.

GUTIÉRREZ, R.; PASSOS, F.; FERRER, I.; UGGETTI, E.; GARCÍA, J. (2015). **Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production.** *Algal Research*. v.9, p.204-211.

HAMID, S. H. A.; LANANAN, F.; DIN, W.N.S.; LAM, S.S.; KHATOON, H.; ENDUT, A.; JUSOH, A (2014). **Harvesting microalgae, *Chlorella sp.*, by bio-flocculation by *Moringa oleifera* seed derivatives from aquaculture wastewater phytoremediation.** *International Biodeterioration and Biodegradation*. v.95, p.270-275.

HANAGATA, N.; TAKEUCHI, T.; FUKUJU, Y.; BARNES, D.J.; KARUBE, I. **Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature.** (1992). v.31, n.10, p.3345-3348.

HEASMAN, M.; DIEMAR, J.; O'CONNOR, W.; SUSHAMES, T.; FOULKES, L. (2000). **Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs – a summary.** *Aquaculture Research*. v.31, p.637-659.

HU, Y.; GUO, C.; LING, X.; WANG, F.; WANG, S.; HU, Z.; LIU, C. (2014). **A magnetic separator for efficient microalgae harvesting.** *Bioresource Technology*. v.158, p. 388–391.

KASSAB, G.; HALALSHEH, M.; KLAPWIJK, A.; FAYYAD, M.; VAN LIER J.B. (2010). **Sequential anaerobic–aerobic treatment for domestic wastewater – A review.** *Bioresource Technology*. v.101, p.3299–3310.

KIMURA, I. Y. (2001). **Remoção de corantes reativos contendo grupos vinilsulfona e triazina por adsorção e coagulação/floculação com quitosana.** Tese (Doutorado) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

KLOK, A.J.; VERBAANDERD, J.A.; LAMERS, P.P.; MARTENS, D.E.; RINZEMA, A.; WIJFFELS, R.H. (2013). **A model for customising biomass composition in continuous microalgae production**. *Bioresource Technology*. v.146, p.89-100.

KUMAR, A.; ERGAS, S.; YUAN, Y.; SAHU, A.; ZHANG, Q.; DEWULF, J.; MALCATA, F.X., VAN LANGENHOVE, H. (2010). **Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recente developments and future directions**. *Trends in Biotechnology*. v.28, p.371–380.

KURNIAWATI, H.A.; ISMADJI, S.; LIU, J.C. (2014). **Microalgae harvesting by flotation using natural saponin and chitosan**. *Bioresource Technology*. v.166, p.429-434.

KUNJAPUR, A. M.; ELDRIDGE, R. B. (2010). **Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae**. *Journal of Industrial and Chemistry Engineering*. v. 49, n. 8, p.3516-3526.

LIVE FUELS INC. (UNITED STATES). STEPHEN, D.; MORGENTHALER, G.E.; WU, C. **Systems and methods for harvesting algae**. US n° US 2012/0137574 A1, 15 jul. 2010, 23 mar. 2012. 2012.

LEE, A.K.; LEE, D.M.; LEWIS, P.J.A. (2010). **Energy requirements and economic analysis of a full-scale microbial flocculation system for microalgal harvesting**. *Chemical Engineering Research and Design*. v.88, p.988-996.

LEE, A.K.; LEE, D.M.; LEWIS, P.J.A. (2012). **Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: Processes and specific energy requirements**. *Biomass and Bioenergy*. v.46, p.89-101.

MA, J.; LIU, W. (2002). **Effectiveness and mechanism of potassium ferrate (VI) preoxidation for algae removal by coagulation**. *Water Research*. v.36, p.871-878.

MAHAPATRA, D.M.; CHANAKYA, H.N.; RAMACHANDRA, T.V. (2014). **Bioremediation and lipid synthesis through mixotrophic algal consortia in municipal wastewater**. *Bioresource Technology*. v. 168, p.142-150.

MALCATA, F.X.; VAN LANGENHOVE, H. (2010). **Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions**. *Trends in Biotechnology*. v.28, p.371-380.

MARŠÁLKOVÁ, B.; ŠIRMEROVÁ, M.; KUŘEC, M.; BRÁNYIK, T. (2010). **Microalgae *Chlorella sp.* as an alternative source of fermentable sugars**. *Chemical Engineering Transactions*. v.21, p.1279-1284.

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

MENNAA, F.Z.; ARBIB, Z.; PERALES, J.A. (2015). **Urban wastewater treatment by seven species of microalgae and an algal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics and harvestability**. *Water Research*. v.83, p.42-51.

MEZZARI, M.P.; SILVA, M.L.B.; PIROLI, M.; PERAZZOLI, S.; STEINMETZ, R.L.R.; NUNES, E.O.; SOARES, H.M. (2014). **Assessment of a tannin-based organic polymer to harvest *Chlorella vulgaris* biomass from swine wastewater digestate phycoremediation**. *Water Science & Technology*. v.70, p.888-894.

MILLEDGE, J. J.; HEAVEN, S. (2013). **A review of the harvesting of microalgae for biofuel production**. *Reviews In Environmental Science and Biotechnology*. v.12, n.2, p.165-178.

MISRA, R.; GULDHE, A.; SINGH, P.; RAWAT, I.; BUX, F. (2014). **Electrochemical harvesting process for microalgae by using nonsacrificial carbon electrode: A sustainable approach for biodiesel production**. *Chemical Engineering Journal*. v.255, p.327–333.

MOAZAMI, N.; ASHORI, A.; RANJBAR, R.; TANGESTANI, M.; EGHTEHADI, R.; NEJAD, A.S. **Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis***. *Biomass and Bioenergy*. v.39, p.449-453.

MUYLAERT, K.; VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; BRADY, P.V. (2015). **Harvesting of Microalgae by Means of Flocculation**. In: MOHEIMANI, Navid R. et al. *Biomass and Biofuel from Microalgae: Biofuel and Biorefinery Technologies*. 2. ed. Switzerland: Springer. Cap. 12. p.251-273.

OH, H.; LEE, S.J.; PARK, M.; KIM, H.; KIM, H.; YOON, J.; KWON, G.; YOON, B.; (2011). **Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus sp. AM49***. *Biotechnology Letters*. v.23, p.1229-1234.

OHTA, Y.; KONDO, Y.; KAWADA, K.; TERANAKA, T.; YOSHINO, N. (2008). **Synthesis and antibacterial activity of quaternary ammonium salt-type antibacterial agents with a phosphate group**. *Journal of Oleo Science*. v.57, p.445–452.

OLIVI, P.; COSTA, C.R.; BOTTA, C.M.R.; ESPÍNDOLA, E.L.G. (2008). **A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação**. *Química Nova*. v.31, n.7, p.1820-1830.

PAIXÃO, G.C. (1996). **Estudo da coagulação-floculação-sedimentação de água com turbidez ou cor elevada, utilizando polímero sintético como auxiliar de floculação**. São Carlos. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

PAL, S.; MAL, D.; SINGH, R. P. (2005). **Cationic starch: an effective flocculating agent**. *Carbohydrate Polymers*. v.59, p.417–423.

PEREIRA, C.M.P.; HOBUSS, C.B.; MACIEL, J.V.; FERREIRA, L.R.; DEL PINO, F.B.; MESKO, M.F. (2013). **Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas**. v.35, n.10, p.2013-2018.

PIGNOLET, O.; JUBEAU, S.; VACA-GARCIA, C.; MICHAUD, P. (2013). **Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects**. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. v.40, p.781-796.

POSTEN, C. (2009). **Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae**. Engineering in Life Sciences. v.9, p.165-177.

PONTEN, C. (2012). **Harvesting fresh water and marine algae by magnetic separation: Screening of separation parameters and high gradient magnetic filtration**. Bioresource Technology. v.118, p.289-295.

PRANEE, A.; THANATCHA, R. (2011). **Extraction and characterization of mucilage in *Ziziphus mauritiana* Lam**. International Food Research Journal. v.18, p.201-212.

RAKESH, S.; SAXENA, S.; DHAR, D.W.; PRASANNA, R.; SAXENA, A.K. (2014). **Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae**. Journal of Applied Phycology. v.26, p.399-406.

RICHTER, C.A. (2009). **Água: Métodos e tecnologia de tratamento**. São Paulo: Editora Blucher, 340p.

ROSELET, F.; VANDAMME, D.; ROSELET, M.; MUYLAERT, K.; ABREU, P.C. (2015). **Screening of commercial natural and synthetic cationic polymers for flocculation of freshwater and marine microalgae and effects of molecular weight and charge density**. Algae Research. v.10, p.183-188.

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

SCRAGG, A.H.; ILLMAN, A.M.; CARDEN, A.; SHALES, S.W. (2002). **Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor**. Biomass and Bioenergy. v.23, p.67-73.

SHARMA, Y.C.; SINGHA, B.; KORSTAD, J. (2011). **A critical review on recent methods used for economically viable and eco-friendly development of microalgae as a potential feedstock for synthesis of biodiesel.** Green Chemistry. v.13, p. 2993- 3006.

SIALVE, B.; BERNET, N.; BERNARD, O. (2009). **Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable.** Biotechnology Advances. v.27, p.409-416.

SUALI, E.; SARBATLY, R. (2012). **Conversion of microalgae to biofuel.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. v.16, p.4316-4342.

SUN, X.; WANG, C.; TONG, Y.; WANG, W.; WEI, J. (2013). **A comparative study of microfiltration and ultrafiltration for algae harvesting.** Algal Research. v.2, p.437-444.

SUTHERLAND, D.L.; HOWARD-WILLIAMS, C.; TURNBULL, M.H.; BROADY, P.A.; CRAGGS, R.J. (2015). **The effects of CO<sub>2</sub> addition along a pH gradient on wastewater microalgal photo-physiology, biomass production and nutrient removal.** Water Research. v.70, p.9-26.

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

UDOM, I.; ZARIBAFB, B.H.; HALFHIDEB, T.; GILLIEA, B.; DALRYMPLEB, O.; ZHANGB, Q.; ERGAS, S.J. (2013). **Harvesting microalgae grown on wastewater.** Bioresource Technology. v.139, p.101-106.

UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M.K.; FORDE, G.M.; HOADLEY, A. (2010). **Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels.** Journal of Renewable and Sustainable Energy. v. 2, p.1-15.

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

VAN DER HULST, C. (2012). **Microalgae cultivation systems: Analysis of microalgae cultivation systems and LCA for biodiesel production**. Utrecht. Thesis (Masters) - Copernicus Institute of Sustainable Development. Energy and Resources, Utrecht University.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K.; MEESSCHAERT, B. (2010). **Flocculation of microalgae using cationic starch**. *Journal of Applied Phycology*. v.22, p.525-530.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K.; PONTES, S.C.V.; GOIRIS, K.; PINOY, L.J.J. (2011). **Evaluation of electro-coagulation–flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae**. *Biotechnology and Bioengineering*. v.108, p.2320-2329.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K.; MEESSCHAERT, B.; FRAEYE, I. (2012). **Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications**. *Bioresource Technology*. v.105, p.114-119.

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

VIEIRA, M.F.; BERGAMASCO, R.; VIEIRA, A.M.S. (2015). **Coagulation-flocculation process with ultrafiltered saline extract of *Moringa oleifera* for treatment of surface water**. *Chemical Engineering Journal*. v.276, p166-173.

XU, L.; GUO, C.; WANG, F.; ZHENG, S.; LIU, C. (2011). **Simple and rapid harvesting method for microalgae by in situ magnetic separation**. *Bioresource Technology*. v. 102, p.10047–10051.

WALKER, T.L.; PURTON, S.; BECKER, D.K.; COLLET, C. (2005). **Microalgae as bioreactors**. Plant Cell Reports. v.24, p.629-641.

WAN, C.; ALAM, A.; ZHAO, X.; ZHANG, X.; GUO, S.; HO, S.; CHANG, J.; BAI, F. (2015). **Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies**. Bioresource Technology. v.184, p.251-257.

WANG, L.; LIANG, W.; YU, J.; LIANG, Z.; RUAN, L.; ZHANG, Y. (2013). **Flocculation of *Microcystis aeruginosa* Using Modified Larch Tannin**. Environmental Science Technology. v.47, p.5771-5777.

WU, J.; LIU, J.; LIN, L.; ZHANG, C.; LI, A.; ZHU, Y.; ZHANG, Y. (2015). **Evaluation of several flocculants for flocculating microalgae**. Bioresource Technology. v.197, p.495-501.

YOO, C.; JUN, S.; LEE, L.; AHN, C.; OH, H. (2010). **Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide**. Bioresource Thecnology. v.101, p.S71-S74.

ZAIA, D.A.M.; ZAIA, C.T.B.V.; LICHTIG, J. (1998). **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes**. Química Nova. v.21, p.787-793.

ZAMALLOA, C.; VULSTEKE, E.; ALBRECHT, J.; VERSTRAETE, W. (2011). **The techno-economic potential of renewable energy through the anaerobic digestion of microalgae**. Bioresource Technology. v.102, p.1149-1158.

ZENG, X.; DANQUAH, M.K.; CHEN, X.D.; LU, Y. (2011). **Microalgae bioengineering: from CO<sub>2</sub> fixation to biofuel production**. Renewable and Sustainable Energy Reviews. v.15, p.3252-3260.

ZHANG, X.; HUA, Q.; SOMMERFELD, M.; PURUHITO, E.; CHEN, Y. (2010). **Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes.** *Bioresource Technology*. v.101, p.5297–5304.

ZHENG, H.; GAO, Z.; YIN, J.; TANG, X.; JI, X.; HUANG, H. (2012). **Harvesting of microalgae by flocculation with poly ( $\gamma$ -glutamic acid).** *Bioresource Technology*. v.112, p.212-220.

ZHOU, W.; CHENG, Y.; LI, Y.; WAN, Y.; LIU, Y.; LIN, X.; RUAN, R. (2012). **Novel Fungal Pelletization-Assisted Technology for Algae Harvesting and Wastewater Treatment.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*. v.167, p.214-228.

## 9 ANEXOS

## ANEXO I

Os gradientes de velocidade fornecidos pelo equipamento utilizado para os testes de jarros são calculados de acordo com as rotações inseridas como dado de entrada, mas os cálculos são realizados para um volume amostral de 2,0 L. (RICHTER, 2009). Sendo assim, os gradientes de velocidade para a condição de volume igual a 0,8 L estão apresentados nos cálculos abaixo.

### 1) Cálculo da potência dissipada na mistura rápida

Dados:

- $\rho$  a 30°C = 995,65 Kg/m<sup>3</sup>
- $n$  = 400 rpm = 6,67 rps
- $D$  = 0,075 (diâmetro da turbina)
- $K$  = 5 (Richter, 2009)

$$P = K\rho n^3 D^5 \quad (\text{II})$$

$$P = 5 \times 999,65 \times 6,67^3 \times 0,075^5$$

$$\boxed{P = 3,5 \text{ W}}$$

### 2) Cálculo do Gradiente de velocidade de mistura rápida

Dados:

- $P$  = 3,5 W
- $\mu$  a 30°C =  $7,98 \times 10^{-4}$
- $V_a$  =  $8,60 \times 10^{-4}$

$$G = \sqrt{\frac{P}{\mu V}} \quad (\text{III})$$

$$G = \sqrt{\frac{3,5}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

$$\boxed{G = 2258,8 \text{ s}^{-1}}$$

### 3) Cálculo das potências dissipadas nas etapas de floculação

Dados:

- $\rho$  a 30°C = 999,65 Kg/m<sup>3</sup>
- $n_1 = 75$  rpm = 1,25 rps
- $n_2 = 20$  rpm = 0,33 rps
- $D = 0,075$  (diâmetro da turbina)
- $K = 5$  (Richter, 2009)

De acordo com a Equação II:

$$P_1 = 5 \times 999,65 \times 1,25^3 \times 0,075^5$$

$$P_1 = 2,3 \times 10^{-2} \text{ W}$$

$$P_2 = K\rho n^3 D^5$$

$$P_2 = 5 \times 999,65 \times 0,33^3 \times 0,075^5$$

$$P_2 = 4,24 \times 10^{-4} \text{ W}$$

### 4) Cálculo do Gradiente de velocidade nas etapas de floculação

Dados:

- $P_1 = 2,23 \times 10^{-2}$  W
- $P_2 = 4,25 \times 10^{-4}$  W
- $\mu$  a 30°C =  $7,98 \times 10^{-4}$
- $V_a = 8,60 \times 10^{-4}$

De acordo com a Equação III:

$$G_1 = \sqrt{\frac{0,023}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

$$G_1 = 183,10 \text{ s}^{-1}$$

$$G_2 = \sqrt{\frac{4,25 \times 10^{-4}}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

$$G_2 = 24,8 \text{ s}^{-1}$$

5) Cálculo dos números de rotação por minuto das paletas a serem inseridos como entrada nos testes de coagulação-floculação

- Para  $GMR = 900 \text{ s}^{-1}$

Dados:

-  $\mu$  a  $30^\circ\text{C} = 7,98 \times 10^{-4}$

-  $V_a = 8,60 \times 10^{-4}$

$$P = \mu GMR^2 V_a = 900^2 \times 7,98^{-3} \times 9,8^{-4}$$

$$\boxed{P = 0,56 \text{ W}}$$

Logo:

$$RMR = \sqrt[3]{\frac{P}{K V_a}} = \sqrt[3]{\frac{0,56}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

$$\boxed{RMR = 217 \text{ rpm}}$$

- Para  $GF_1 = 75 \text{ s}^{-1}$

Dados:

-  $\mu$  a  $30^\circ\text{C} = 7,98 \times 10^{-4}$

-  $V_a = 8,60 \times 10^{-4}$

$$P_1 = \mu GF_1^2 V_a = 75^2 \times 7,98^{-3} \times 9,8^{-4}$$

$$\boxed{P_1 = 3,86 \times 10^{-3} \text{ W}}$$

Logo:

$$RF_1 = \sqrt[3]{\frac{P}{K V_a}} = \sqrt[3]{\frac{3,86 \times 10^{-3}}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

$$\boxed{RF_1 = 41 \text{ rpm}}$$

- Para  $GF_2 = 35 \text{ s}^{-1}$

Dados:

-  $\mu$  a  $30^\circ\text{C} = 7,98 \times 10^{-4}$

-  $V_a = 8,60 \times 10^{-4}$

$$P_1 = \mu GF^2 Va = 35^2 \times 7,98^{-3} \times 9,8^{-4}$$

$$\boxed{P_1 = 8,40 \times 10^{-4} \text{ W}}$$

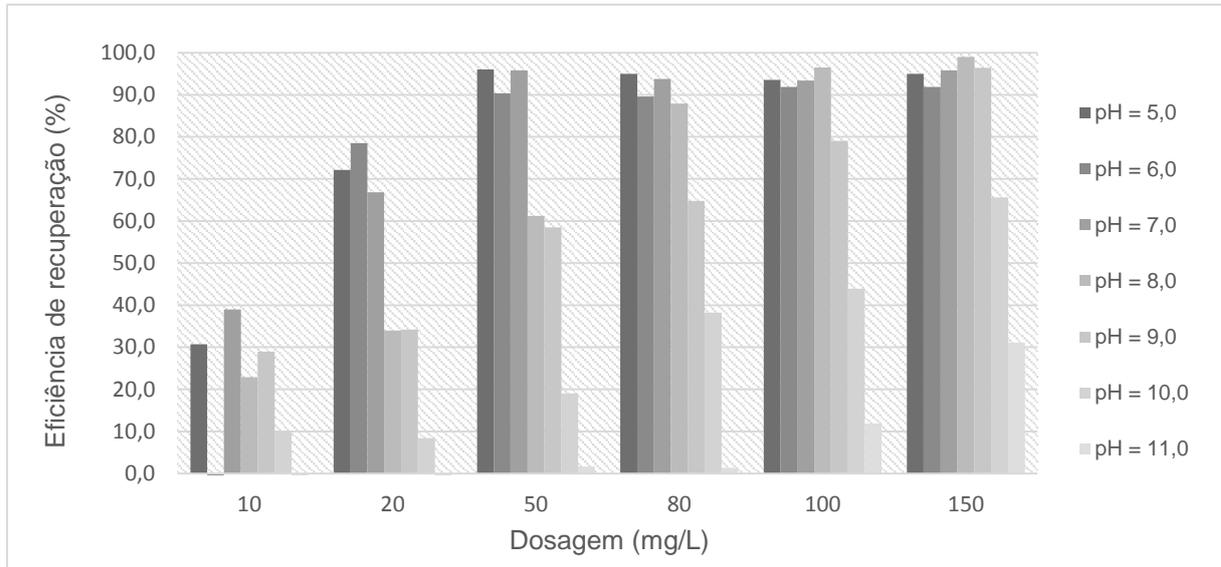
Logo:

$$RF_2 = \sqrt[3]{\frac{P}{K Va}} = \sqrt[3]{\frac{8,40 \times 10^{-4}}{7,98^{-4} \times 8,60^{-4}}}$$

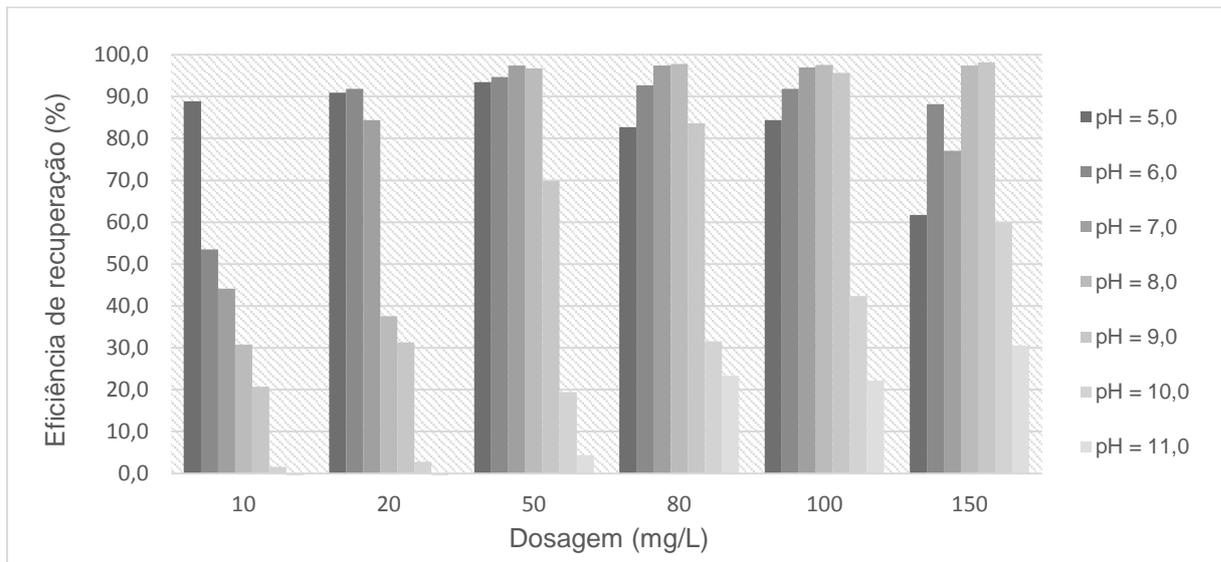
$$\boxed{RF_2 = 25 \text{ rpm}}$$

## ANEXO II

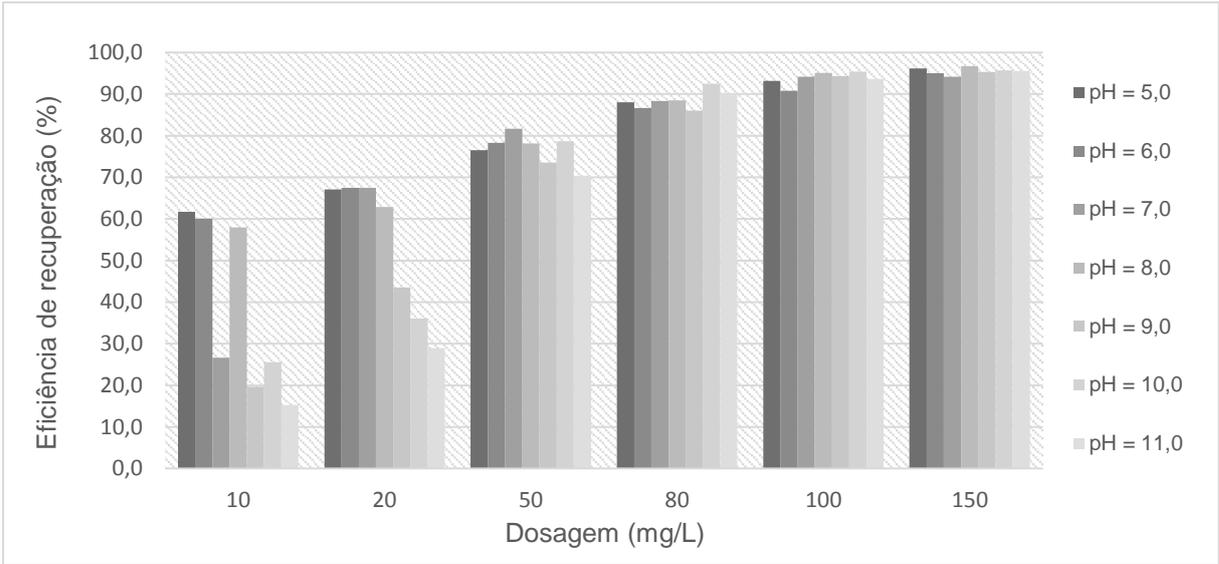
Seguem os gráficos da eficiência de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados, para cada coagulante.



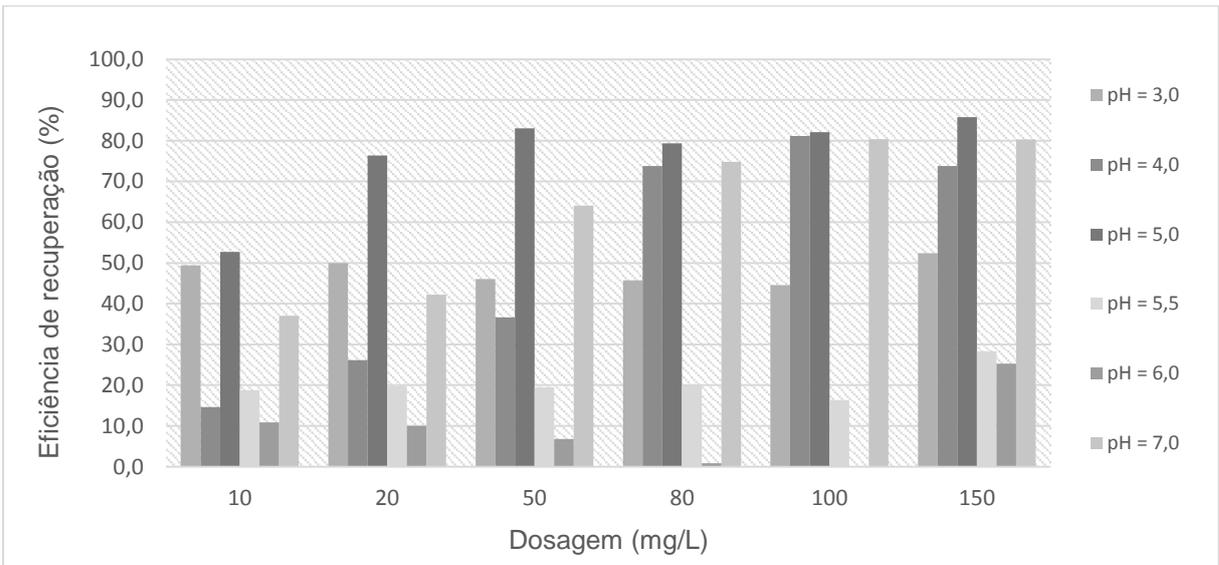
**Figura 33:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante sulfato de alumínio.



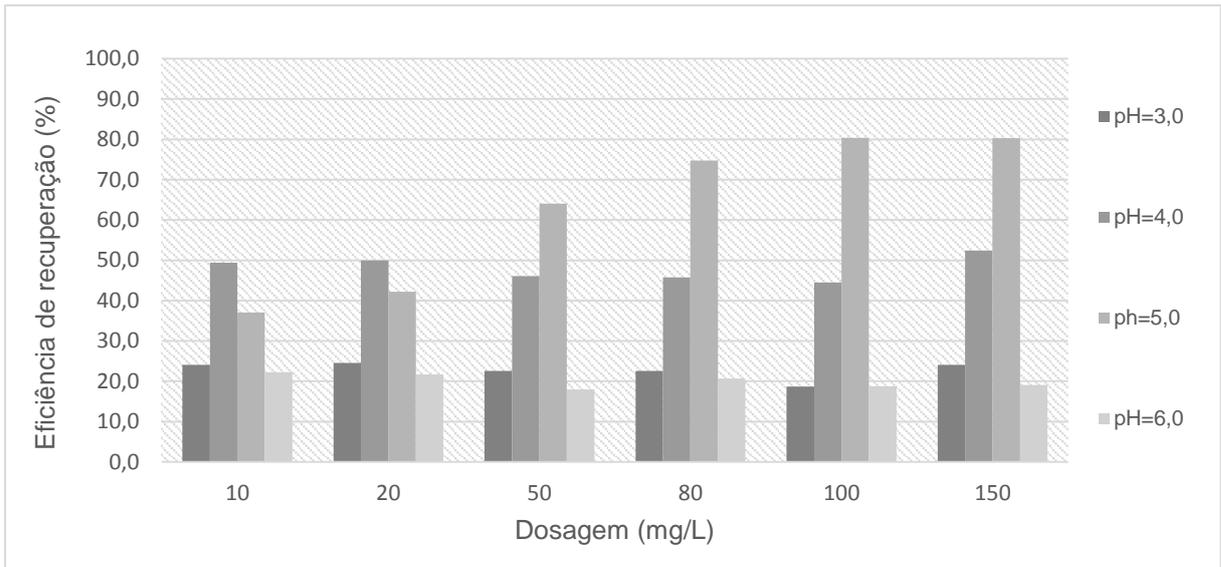
**Figura 34:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de tanino modificado.



**Figura 35:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de amido catiônico.



**Figura 36:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de sementes de *M. oleifera*.



**Figura 37:** Eficiências de recuperação de BMA para os diferentes testes realizados com uso do coagulante de goma de quiabo (*H. esculentus*).