



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS – CCT
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

TÁSSIO HENRIQUE CAVALCANTI DA SILVA CUNHA

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE
MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE
BIOCOMBUSTÍVEL UTILIZANDO EFLUENTE
INDUSTRIAIS E DOMÉSTICO**

CAMPINA GRANDE – PB
2014

TÁSSIO HENRIQUE CAVALCANTI DA SILVA CUNHA

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE
MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE
BIOCOMBUSTÍVEL UTILIZANDO EFLUENTE
INDUSTRIAIS E DOMÉSTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso, submetido ao Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Orientadora: Prof.^a Dra. Weruska Brasileiro Ferreira

CAMPINA GRANDE – PB
2014

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

C972a Cunha, Tássio Henrique Cavalcanti da Silva.
Avaliação do crescimento de microalgas para produção de biocombustível utilizando efluente industriais e doméstico [manuscrito] / Tássio Henrique Cavalcanti da Silva Cunha. - 2014. 59 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2014.

"Orientação: Profa. Dra. Weruska Brasileiro Ferreira, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental".

1. Biocombustíveis. 2. Microalgas. 3. Reuso de efluente. I. Título.

21. ed. CDD 333.794

TÁSSIO HENRIQUE CAVALCANTI DA SILVA CUNHA

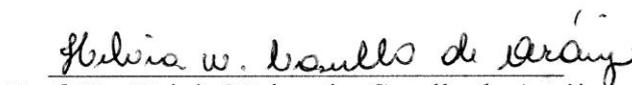
**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE
MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE
BIOCOMBUSTÍVEL UTILIZANDO EFLUENTE
INDUSTRIAIS E DOMÉSTICO**

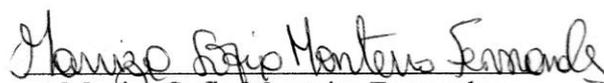
Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba, em Cumprimento às exigências para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia Sanitária e Ambiental.

Aprovada em 29/07/2014.

Nota: 9,6 ()


Prof.ª Dr.ª Weruska Brasileiro Ferreira
Orientadora - UEPB


Prof. Dr. Helvia Walewska Casullo de Araújo
Examinador - UEPB


Maniza Sofia Monteiro Fernandes
Examinadora - UFCG

Dedico esse trabalho aos meu pais, que me encorajaram e muito contribuíram para o meu crescimento e minha família que tanto me apoiam.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva de estar vivo, e ter colocado tantas pessoas que me incentivaram, é por eles que hoje estou aqui.

Aos meus pais que tanto fizeram pra que hoje eu me tornasse quem sou.

A minha irmã pelo carinho e cuidado

A meu avô Luiz Jacob (*in memoriam*), embora fisicamente ausente, sentia sua presença, através de seus conselhos e exemplos.

A minha querida professora Weruska por ter acreditado e me orientado.

Aos amigos do laboratório, por todos os momentos, risadas que dividimos e pelo companheirismo, Iana, Jamila, Olga, Thiago, Yohanna, as bolas: Tarciana, Carol, Lais.

A Maniza por estar sempre disposta a nos ajudar.

Aos meu amigos de turma por terem partilhado momentos aos quais nunca esquecerei e nunca me arrependerei de ter vivido.

Aos professores do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da UEPB, em especial, que contribuíram ao longo desses 5 anos, com meu desenvolvimento e aperfeiçoamento para que hoje poça está concluindo essa etapa.

Aos funcionários da UEPB, pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

A todos que amo, pois por vocês não desisti

RESUMO

Em vistas ao aumento da demanda mundial por energia, a insustentabilidade dos combustíveis fósseis, o aumento de emissões de gases de efeito estufa, é necessário o desenvolvimento de técnicas e políticas que promovam as fontes renováveis de energia para mitigar a exaustão destes recursos. Atualmente o Brasil está entre os maiores produtores de biocombustíveis de primeira geração, entretanto o uso dessa técnica além de competi por terras agricultáveis, produz dez vezes mais quantidade de vinhaça. Dentre as possibilidades para suprir o uso de combustíveis à base de petróleo, destacam-se microalgas como uma possibilidade versátil para a geração de combustíveis líquidos (biodiesel, etanol, bioquerosene), por possui maior taxa de assimilação de CO₂, maior eficiência na produção de óleo em relação as oleaginosas, utilizar águas residuárias e rejeitos industriais como fonte de carbono para seu cultivo. O presente trabalho teve por objetivo maximizar o potencial de desenvolvimento da microalga *Chlorella sp* visando a produção de biocombustíveis utilizando efluentes industriais e domésticos com vistas a reduzir o custo dos cultivos, bem como, promover um destino adequado para esses resíduos líquidos. A microalga foi cultivada em sistema mixotrófico utilizando meio de cultura *Bold's Basal Medium* (BBM) suplementado com extrato de levedura e a ele adicionado separadamente a cada meio de cultivo os efluentes nas proporções: glicerina (2%, 4%, 10%); vinhaça (5%, 10% e 15%); UASB e filtro anaeróbio (5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 80%, 100%). Objetivando uma maior redução com os custos de cultivos foi também estudado a reutilização de cultivo após separação das microalgas nas proporções de 25%, 50%, 75% e 100%. Os cultivos suplementados com os efluentes ofereceram características para o desenvolvimento da microalga, observou-se que com o efluente de UASB e de filtro anaeróbico foi possível realizar o cultivo sem a necessidade do meio sintético. Dessa forma, pode-se concluir que há viabilidade no cultivo de microalgas por meio da suplementação de resíduos líquidos, gerando assim uma nova possibilidade de produção de biocombustíveis.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas, *Chlorella sp*, Biocombustível, efluentes

ABSTRACT

In order to increase the global demand for energy, the unsustainability of fossil fuels, increased emissions of greenhouse gases, it is necessary to develop techniques and policies that promote renewable energy sources to mitigate the depletion of these resources. Currently Brazil is among the largest producers of first generation biofuels, however the use of this technique besides compete for arable land, produces ten times the amount of vinasse. Among the possibilities to replace the usage of petroleum-based fuels, stand out as a versatile microalgae for the generation of liquid fuels (biodiesel, ethanol, bio-kerosene) possibility, has the highest rate of CO₂ assimilation, greater efficiency in the production of oil relative oilseeds, using wastewater and industrial wastes as a carbon source for its cultivation. This study aimed to maximize the development potential of microalgae *Chlorella* sp aimed at producing biofuels using domestic and industrial effluents in order to reduce the cost of cultivation, as well as promote a suitable destination for those effluents. The microalgae were cultured in mixotrófico system using culture medium Bold's Basal Medium (BBM) supplemented with yeast extract and it separately added to the culture medium in the effluent ratios: glycerol (2%, 4%, 10%) ; vinasse (5%, 10% and 15%); And anaerobic UASB filter (5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 80%, 100%). Aiming at further reducing the cost of crops was also studied to reuse separation after cultivation of microalgae in the proportions 25%, 50%, 75% and 100%. The cultures supplemented with effluent characteristics offered for the development of microalgae, it was observed that with the effluent of anaerobic UASB filter and the cultivation was possible without the need for synthetic medium. Thus, we can conclude that there is viability in the cultivation of microalgae through supplementation of liquid waste, thus generating a new possibility of producing biofuels.

KEYWORDS: Microalgae, *Chlorella* sp, Biofuel, Effluent

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curva de crescimento de uma cultura microalgal em relação a disponibilidade de nutrientes.	22
Figura 2 - Fotomicrografia da microalga <i>Chlorella</i> sp	24
Figura 3 - Aclimação dos cultivos	26
Figura 4 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp em cultivo BBM com adição 2% de glicerina	28
Figura 5 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp em cultivo BBM com adição 4% de glicerina.	29
Figura 6 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp em BBM com 10% de glicerina.	29
Figura 7 - Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada com glicerina	30
Figura 8 - Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando a glicerina em BBM	31
Figura 9 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 5% de vinhaça	32
Figura 10 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 10% de vinhaça	32
Figura 11 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 15% de vinhaça	33
Figura 12 - Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com vinhaça	34
Figura 13 - Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando a vinhaça como fonte orgânica de carbono	34
Figura 14 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp com adição de 25% de resíduo BBM + vinhaça	35
Figura 15 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp com adição de 50% de resíduo BBM + vinhaça	36
Figura 16 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp com adição de 75% de resíduo BBM + vinhaça	36
Figura 17 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp com adição de 100% de resíduo BBM + vinhaça	37

Figura 18 - Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa com adição de resíduo do cultivo em BBM	38
Figura 19 - Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando o resíduo de cultivo (BBM + vinhaça) em BBM	39
Figura 20 - Dados experimentais do crescimento da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 5% de efluente de UASB	40
Figura 21 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 10% efluente de UASB	40
Figura 22 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 20% de efluente de UASB	41
Figura 23 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 30% de efluente de UASB	41
Figura 24 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 40% de efluente de UASB	42
Figura 25 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 60% de efluente de UASB	42
Figura 26 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 80% de efluente de UASB	43
Figura 27 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 100% de efluente de UASB	43
Figura 28 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp com 100% de efluente de UASB	44
Figura 29 - Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com efluente de UASB	45
Figura 30 - Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando o efluente de UASB em BBM	45
Figura 31 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 5% de efluente do Filtro Anaeróbio	46
Figura 32 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 10% de efluente Filtro Anaeróbio	47
Figura 33 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 20% de efluente Filtro Anaeróbio	47

Figura 34 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 30% de efluente Filtro Anaeróbio	48
Figura 35 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 40% de efluente do Filtro Anaeróbio	48
Figura 36 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 60% de efluente Filtro Anaeróbio	49
Figura 37 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 80% de efluente Filtro Anaeróbio	49
Figura 38 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada em BBM com adição de 100% de efluente do Filtro Anaeróbio	50
Figura 39 - Dados experimentais da <i>Chlorella</i> sp cultivada com 100% de efluente do Filtro Anaeróbio	50
Figura 40 - Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com efluente de Filtro Anaeróbio	51
Figura 41 - Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando o efluente de Filtro Anaeróbio em BBM	52
Figura 42 - Comparativo entre os cultivos suplementados com a Glicerina	53
Figura 43 - Comparativo entre os cultivos suplementados com vinhaça	53
Figura 44 - Comparativo entre os cultivos suplementado com a reutilização dos cultivos com vinhaça	54
Figura 45 - Comparativo entre os cultivos suplementado com efluente de UASB	54
Figura 46 - Comparativo entre os cultivos suplementado com efluente de Filtro Anaeróbio	55
Figura 47 - Comparativo entre todos os cultivos estudados	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivo específico	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEORICA	16
3.1	Biocombustível	16
3.2	Produção de etanol a partir de microalgas	16
3.3	Custo de produção	18
3.4	Resíduo Líquido da Indústria Sucoalcooleira	19
3.5	Tratamento de esgoto domestico	20
3.6	Tratamento do resíduo liquido oriundo da produção de biodiesel	21
3.7	Crescimento das microalga	22
3.8	Tipos de cultivos	23
4	METODOLOGIA	24
4.1	Microalga	24
4.2	Meio de cultura	24
4.3	Resíduos líquidos Suplementados ao meios de cultivo	24
4.3.1	<i>Análise de demanda química de oxigênio (DQO)</i>	25
4.3.2	<i>Pré-tratamentos físico e químico</i>	25
4.3.3	<i>Separação do resíduo de cultivo</i>	25
4.4	Aclimação química e física dos cultivos	26
4.5	Estudos do crescimento celular da <i>Chlorella</i> sp	27
4.6	Planejamento experimental	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1	Meio de cultivo BBM com adição de Glicerina	28
5.1.1	<i>Modelo matemático do crescimento da Chlorella em meio BBM com adição de glicerina</i>	30
5.1.2	<i>Análise estatística do crescimento da Chlorella sp cultivada em BBM adicionado glicerina</i>	30
5.2	Meio de cultivo BBM com adição de vinhaça	31
5.2.1	<i>Modelo matemático do crescimento da Chlorella com adição de vinhaça ao meio de cultivo</i>	33
5.2.2	<i>Análise estatística do crescimento da Chlorella com adição de vinhaça ao meio de cultivo</i>	34
5.2.3	<i>Meio de cultivo BBM com adição de resíduo de cultivo (BBM + vinhaça)</i>	35
5.2.3.1	<i>Modelo matemático do crescimento da Chlorella com adição de resíduo do cultivo em BBM adicionado vinhaça</i>	37
5.2.3.2	<i>Análise estatística do crescimento da Chlorella sp com adição de resíduo do cultivo em BBM adicionado vinhaça</i>	38
5.3	Meio de cultivo BBM com adição de Efluente de UASB	39
5.3.1	<i>Modelo matemático do crescimento da Chlorella em meio BBM com adição de efluente de UASB</i>	44
5.3.2	<i>Análise estatística do crescimento da Chlorella sp cultivada em BBM</i>	45

	<i>adicionado efluente de UASB</i>	
5.4	Meio de cultivo BBM com adição de Efluente de Filtro Anaeróbio	45
5.4.1	<i>Modelo matemático do crescimento da Chlorella com adição de efluente de Filtro Anaeróbio</i>	50
5.4.2	<i>Análise estatística do crescimento da Chlorella sp com adição de efluente de Filtro Anaeróbio</i>	51
5.5	Comparativo dos cultivos	52
6	CONSIDERAÇÕES GERAIS	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1-INTRODUÇÃO

Em 2008, os combustíveis fósseis foram responsável por 88% do consumo de energia primária mundial. Estima-se que até 2025 a demanda desses combustíveis aumentarão em 57% a fim de suprir a exigência da população em crescimento (BRENNAN; OWENDE,2010). Porém, é preciso considerar a falência dos recurso naturais e os efeitos nocivos da queima destes combustíveis. De modo faz-se necessário o desenvolvimento de técnicas e políticas que promovam as fontes renováveis de energia para mitigar a exaustão destes recursos, viabilizando assim a sustentabilidade ambiental e econômica.

Dentre as possibilidades para suprir o uso de combustíveis à base de petróleo, destacam-se as microalgas como uma possibilidade versátil para a geração de: combustíveis líquidos (biodiesel, etanol, bioquerosene), bioplásticos, e intermediários químicos do setor petroquímico, pois possuem em sua estrutura celular uma grande quantidade de carboidratos e lipídios, dentre outras substâncias, que podem ser utilizadas como matérias-primas para a produção de biocombustíveis.

Microalgas são organismos fotossintéticos simples, o que permite adaptar-se ao ambiente, encontrados livremente na natureza, cumprindo importantes funções como principal produtores marinhos, de água doce e terrestres, apresentam alta taxas de crescimento, em determinadas espécies pode ter um aumento de três vezes na biomassa por dia. Por esses fatores a *Chlorella*, tem sido considerado promissora para a produção de biocombustível. (Farias, 2012 et. al. Apud Graham et al., 2009). Atualmente o aproveitamentos mais simples das microalgas são para alimentação animal e humana, utilizando diferentes métodos de cultivo para produzir biomassa (LOURENÇO, 2006).

Além das funções supracitadas, O crescimento das microalgas pode ser devido a presença de luz e dióxido de carbono – cultivo autotrófico; utilizando compostos orgânicos como energia e fonte de carbono – cultivo heterotrófico ou ainda em sistema utilizando fontes orgânicas de carbono associadas a fixação do carbono inorgânico na fotossíntese – cultivo mixotrófico. Estes organismos podem ser cultivados em diversos sistemas de produção, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros. (BAUMGARTNER, et. al. 2013)

Dentre as vantagens de utilizar biocombustíveis derivados de microalgas destacam-se: capacidade de produzir durante todo o ano, superando o rendimento das melhores oleaginosas, enquanto o rendimento da colza (canola) é de 1.190 L/ha enquanto nas microalgas podem chegar até 12.000 L/ha; apesar de crescer em meio aquoso, necessita de menos água que culturas vegetais, podem ser cultivadas em águas salobras e não necessitam

de terras agricultáveis, por esse motivo não competem com a produção de alimento; são de rápido crescimento e muitas espécies tem de 20 a 50% de óleo; fixam o CO₂ (1 kg de biomassa algal seca/1,83 kg de CO₂); podem utilizar águas residuárias e rejeitos industriais como fonte de carbono para seu cultivo, evitando o despejo de tais poluentes em locais inadequados (BRENNAN E OWENDE, 2010).

Apesar da potencialidade como recurso para biocombustíveis muitos desafios têm impedido a viabilidade comercial que poderia permitir produção e utilização sustentável o processo ainda é limitado por alguns fatores relacionados aos custos de produção envolvidos na composição do meio, falta de dados para plantas de grande porte e alcançar maior eficiência fotossintética.

Neste sentido, uma boa alternativa é aliar a produção com meios de cultura alternativos, entre os quais é possível destacar: águas residuárias, efluentes de biodigestores, lodo digerido, vinhaça de cana-de-açúcar, dentre outros.

Assim sendo esse trabalho teve como objetivo maximizar a produção da microalga *Chlorella sp* visando a produção de biocombustível utilizando efluentes industriais e doméstico com vistas a reduzir o custo dos cultivos, bem como, promover um destino adequado pra esses efluentes.

2- OBJETIVO

2.1- Objetivo geral

- Otimizar o cultivo das microalgas *Chlorella* sp em meios de culturas suplementados com resíduos líquidos de alto impacto ambiental visando viabilizar a produção de biocombustíveis de terceira geração.

2.2- Objetivo específico

- Selecionar e adaptar as cepas das microalgas *Chlorella* sp ao cultivo autotrófico em meios de culturas tradicionais como controle para identificar as condições de maior produtividade celular e densidade celular através dos estudos das curvas de crescimento celular;
- Selecionar e adaptar as cepas das microalgas *Chlorella* sp ao cultivo mixotrófico através do uso da vinhaça em meios de culturas tradicionais para identificar as condições de maior taxa de crescimento celular;
- Selecionar e adaptar as cepas das microalgas *Chlorella* sp ao cultivo mixotrófico através do efluente do UASB em meios de culturas tradicionais para identificar as condições de maior taxa de crescimento celular;
- Selecionar e adaptar as cepas das microalgas *Chlorella* sp ao cultivo mixotrófico através do efluente do Filtro Anaeróbico em meios de culturas tradicionais para identificar as condições de maior taxa de crescimento celular;
- Estudar o desenvolvimento celular através do meio de cultura suplementado em diferentes proporções com o subproduto gerado na produção de biodiesel, glicerina;
- Avaliar a potencialidade destes resíduos como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) visando potencializar a produção da microalga em estudo, utilizando a metodologia do planejamento fatorial 2².

3- FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

3.1. Biocombustível

Como o consumo mundial de energia deverá aumentar 57% entre 2001 e 2025, consideráveis esforços estão sendo direcionados para o desenvolvimento de fontes de energia sustentáveis e neutras de carbono para atender às necessidades futuras (CARERE et al., 2008).

Os biocombustíveis são uma alternativa atrativa aos combustíveis à base de petróleo, já que podem ser utilizados como combustíveis de transporte com pouca mudança de corrente tecnologias e têm um potencial significativo para manter a sustentabilidade (CARERE et al., 2008).

Atualmente a maiorias dos fabricantes de automóveis produzem veículos híbridos que pode ser utilizados com etanol a 10% ou 85% de etanol (E85), podendo substituir o diesel em veículos pesados. Quase todo o etanol combustível é produzido processo de fermentação da glicose de milho ou sacarose (ROSILLO-CALLE e CORTEZ, 1998). Geralmente, etanol pode ser derivada a partir de qualquer material que contenha açúcar. As matérias-primas utilizadas na fabricação de etanol por fermentação são classificados como açúcares, amidos e materiais celulósicos (BAILEY e OLLIS, 2008). Açúcares pode ser diretamente convertido em etanol, enquanto que os amidos primeiro tem que ser hidrolisado em açúcares fermentáveis pela ação de enzimas. Celulose deve também ser convertido de açúcares antes de nova fermentação, geralmente pela ação de ácidos minerais (NGUYEN e VU, 2012).

3.2. Produção de biocombustíveis a partir de microalgas

Usando microalgas como fonte de biocombustíveis essas podem ser convertidas por métodos termoquímicos e bioquímicos, o que não é uma ideia nova, mas agora se difunde por causa do aumento do custo do petróleo, bem como com a preocupação sobre o aquecimento global decorrente da queima de combustíveis fósseis (SAWAYAMA et al., 1995).

Para produção de etanol são utilizado espécies que produzem altos níveis de carboidratos. Estima-se que a produção a partir das microalga seja em torno de 46.760 – 140.290 L/ha, eficiência maior que outras matérias-primas, como mostra a Tabela 1.

TABELA 1 - Rendimento de etanol a partir de diferentes fontes

Fonte	Rendimento de Etanol (gal / acre)	Rendimento de Etanol (L/ha)
A palha de milho	112-150	1.050-1.400
Trigo	277	2.590
Mandioca	354	3.310
Sorgo doce	326-435	3.050-4.070
Milho	370-430	3.460-4.020
Beterraba açucareira	536-714	5.010-6.680
Microalgas	5.000–15.000	46.760–140.290

Fonte: (NGUYEN e VU, 2012).

A produção de bioetanol a partir de microalgas começa com a secagem das algas cultivadas. A biomassa é triturada e hidrolisada seguida, essa massa é fermentada e finalmente destilada (DEMIRBAS e DEMIRBAS, 2010). Já para a produção o amido das microalgas é libertado com o auxílio de um dispositivo mecânico ou uma enzima. Quando as células começam a degradar-se, a *Saccharomyces cerevisiae* é adicionada para iniciar a fermentação.

Apenas em 1970 após a crise do petróleo intensificou o interesse para produção de biocombustível a partir das microalgas, o laboratório dos Estados Unidos criou em 1978 um programa dedicado a produção de energia alternativa incluindo a produção de biodiesel a partir das microalgas. Seu mercado cresceu de menos de um bilhão de litros em 1975, para mais de 39 bilhões de litros em 2006 e deve chegar a 100 bilhões de litros em 2015 (FERREIRA, 2012). A produção de bioetanol a partir de algas marinhas tem um grande potencial para o desenvolvimento sustentável. No entanto a produção de energia a partir de microalgas só será viável economicamente se os custos de produção forem baixos.

A partir desse enfoque, a biomassa é a mais promissora das fontes renováveis de energia por ser disponível naturalmente, pode ser produzida em grandes quantidades e permite a produção de combustíveis líquidos, gasosos ou sólidos com potencial de abastecer vários setores que demandam energia, destacando a capacidade de ser inteiramente renovável e sustentável (DEMIRBAS, 2008).

Os biocombustíveis mais utilizados em nível global são os álcoois (principalmente bioetanol) e o biodiesel, conhecidos como biocombustíveis de primeira geração, são produzidos geralmente a partir de culturas terrestres antes concorrendo com a produção de

alimentos. O bioetanol é produzido principalmente a partir de cana-de-açúcar, do milho, da beterraba, da batata, do sorgo e do trigo enquanto o biodiesel é produzido principalmente via transesterificação de óleos vegetais, em especial, óleos de palma, de colza, de soja e de girassol. A segunda geração de biocombustíveis propõe a produção de biocombustíveis a partir de biomassa que não é tradicionalmente usada na alimentação humana ou animal. O bioetanol é produzido a partir da fermentação de toda a biomassa linho-celulósica, enquanto que outros biocombustível derivados da liquefação ou da gaseificação de toda a espécie de biomassa ou matéria orgânica. (TAVARES, 2009).

Os combustíveis de terceira geração também conhecidos como biocombustíveis avançados, pode usar a técnica de Biologia Molecular. Microalgas podem oferecer vários tipos de biocombustíveis renováveis. Estes incluem o metano ou biogás produzido pela digestão anaeróbica da biomassa, o biodiesel derivado de óleo de microalgas, dihidrogênio produzido pela lignina celulósica por meio da fermentação, bioetanol e biobutanol obtido do açúcar da biomassa por meio da fermentação (SPOLAORE et al., 2006).

3.3. Custos de produção

As microalgas apresentam rendimentos, tanto em termos de biomassa quanto em produção de óleo, muito superiores aos das principais culturas para a produção de biodiesel, no entanto para a implementação dessa tecnologia necessita aplicação de alto investimento.

A *Chlorella* tem sido cultivada comercialmente em massa para os últimos 45 anos. O total produzido foi de cerca de 200 t/ano em 1975; excedeu 1000 t/ano na década de 1980; e aproximou-se de 2000 tano na década de 1990 (RICHMOND 2004). Hoje, a produção está em cerca de 5.000 t/ano e é vendida a um preço de US\$ 20.000/t (LUNDQUIST, WOERTZ et al., 2010).

Os custos médio de capital de uma planta de produção de biodiesel circula em torno de R\$ 49.981.756,48 (quarenta e nove milhões, novecentos e oitenta e um mil, setecentos e cinquenta e seis reais e quarenta e oito centavos) fracionados da seguinte forma: construção das lagoas, aquisição de terreno, remoção de vegetação e terraplenagem são estimados em torno de R\$ 33.617,69/ha. As construção das paredes laterais e centrais são da ordem de R\$ 8.898,14/ha. O sistema de mistura, uma turbina com paletas movida por um motor são de R\$ 16.137,98/ha. Totalizando o custo total para a construção de sistemas de cultivo aberto de R\$ 71.545,45/ha. O consumo de nutrientes foi a partir de pesquisas realizadas em especialistas na venda destes produtos. Os principais nutrientes utilizados são: CO₂, nitrogênio na forma de

amônia, fósforo na forma de superfosfato triplo e ferro na forma de FeSO, totalizando um custo total de nutrientes de R\$ 1.892,25/ ton. (AZERADO, 2012).

3.4. Resíduo Líquido da Indústria Sucroalcooleira

A vinhaça é um efluente originado do processo de destilação do álcool. Dentre todos os resíduos gerados pela indústria sucroalcooleira é o que apresenta o maior impacto ambiental, uma vez que é gerado na proporção de cerca de 10 litros para cada litro de etanol produzido a partir de processos convencionais de fermentação utilizados no Brasil (ÚNICA, 2011). A aplicação da vinhaça nos canaviais como fertirrigação é uma prática antiga e muito difundida, sendo relatados diversos benefícios de ordem química, física e biológica ao solo, bem como o aumento da produtividade da cultura da cana-de-açúcar. O valor fertilizante da vinhaça advém fundamentalmente do elevado teor de potássio, e em segundo plano, da matéria orgânica contida no efluente. Entretanto, os mesmos elevados teores de potássio e matéria orgânico solúvel, aliados a elevada DQO e baixo pH desta água residuária, sugerem que sua aplicação no solo deve ser feita de maneira criteriosa (BONINI, 2012).

Sua carga poluidora sempre elevada varia em função das características da usina e da eficiência do processo de produção. Possui composição complexa, com características variáveis de parâmetros não controlados como: tipo de solo onde é plantada a cana-de-açúcar, tipo de cultivo e manejo da lavoura, formas de colheita, dentre outros fatores. Em média, esse efluente tem elevado teor orgânico (aproximadamente 45g/L, expressa em DQO, demanda química de oxigênio), baixo pH (em torno de 4,5) e elevada temperatura (90°C). Para Nogueira (1996), os diferentes processos industriais de produção do etanol dificultam a definição de uma composição específica para a vinhaça, uma vez que os nutrientes são consumidos apenas pelo crescimento microbiano; quantidades excedentes estarão disponíveis no efluente do processo, tornando esse material atrativo à fertirrigação.

Apesar do potencial da vinhaça como meio nutritivo, existem poucos estudos na literatura sobre sua utilização como meio de cultivo para micro-organismos. No tocante as microalgas, os pioneiros Oliveira e Cáceres (1986) e Oliveira (1988) relatam a utilização da vinhaça de cana-de-açúcar como complemento do meio de cultivo para espécies de água doce, em pesquisa realizada na Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

Dessa forma, o aproveitamento de resíduos líquidos ricos em nutrientes no cultivo de microalgas, alicerça uma possibilidade promissora na obtenção de compostos com

potencialidade para a geração de energia, ao mesmo tempo em que mitiga os impactos negativos desses resíduos no Ambiente.

3.5. Tratamento de esgoto doméstico

A importância de introduzir o cultivo de microalgas no tratamento de águas residuárias é que, em sua nutrição necessitam de compostos orgânicos favorecendo a redução dos compostos de nitrogênio e fósforo. Logo, a remoção desses nutrientes nas águas residuárias, evita a eutrofização em corpos aquáticos (Mata et al., 2010)

As microalgas e cianobactérias são usadas no tratamento de águas residuárias devido aos baixos custos envolvidos frente aos sistemas convencionais de tratamento de efluentes. Além disso, soma-se a esta vantagem a formação de co-produto, passível de ser utilizada na fertilização dos solos, ou até na obtenção de biocombustíveis (BONINI, 2000).

O Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente de Manta de Lodo-UASB foi desenvolvido na Holanda por Lettinga, no final de década de 70, para o tratamento de efluentes industriais. Desde então, vem sendo utilizado no tratamento de efluentes domésticos e industriais. O Brasil é o país que mais investe em reatores anaeróbios, essa tecnologia só começou a ser explorada na década de 80, em centros de pesquisa e universidades (ROSSI, 1999)

A utilização de reatores de manta de lodo em regiões de clima tropical e subtropical apresenta-se como solução econômica e segura para tratamento de esgoto sanitários, o processo anaeróbico através de UASB tem mais vantagens em relação aos processos aeróbios convencionais pois é um sistema compacto, com baixa demanda de área; apresenta baixo custo de implantação e operação, baixa produção de lodo, baixo consumo de energia; satisfatória remoção de DBO e DQO (65 - 75%); elevada concentração do lodo excedente e boa desidratabilidade do lodo (CHERNICHARO 2007).

O processo anaeróbico fornece efluente com constituintes residuais, como gases dissolvidos, matéria orgânica, sólidos suspensos, nutrientes (fósforo e nitrogênio) e organismos patogênicos. Desta forma, efluentes advindos de reator anaeróbico de manta de lodo (reator UASB) necessitam de um pós-tratamento (SOUSA, 2000).

Os filtros anaeróbios são utilizados para tratamento de esgotos desde 1950, sendo os primeiros trabalhos datados da década de 60, desde então, tem tido uma aplicação crescente, promovendo hoje uma tecnologia avançada para o tratamento dos esgotos domésticos e efluentes industriais (CHERNICHARO 2007).

O filtro consiste de um tanque que funcionam como reator que estabiliza a matéria orgânica por meio de microrganismos que formam o biofilme aderidos ao leito filtrante, constituído basicamente de pedra ou outro material inerte operando em fluxo vertical, tanto ascendente como descendente (MACHADO, 1997).

O efluente do filtro anaeróbio é geralmente bastante clarificado apresentando baixa concentração de matéria orgânica, inclusive dissolvida, porém é rico em sais minerais. Sendo indicado para uso (reuso) em hidroponia ou para irrigação com fins produtivos (CHERNICHARO 2007).

3.6. Tratamento do resíduo líquido oriundo da produção de biodiesel

Desde o início do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), o Brasil produziu 8,2 milhões de m³ de biodiesel (Brasil, 2014). O crescimento da produção de biodiesel promove um aumento no volume de glicerol (ou glicerina) disponível no mercado, podendo causar sérios prejuízos, caso liberado no meio ambiente (Franco, 2011).

O glicerol é o principal subproduto gerado na produção de biodiesel, que corresponde a 10 % do biodiesel produzido (Franco, 2011). Em 2008 seu volume foi estimado em 105 milhões de litros proveniente da produção de 1 bilhão de litros de biodiesel necessário para cumpri a legislação de 2% de biodiesel incorporado ao diesel já em 2013 a estimativa superou os 250 milhões de litros (Oliveira, 2008).

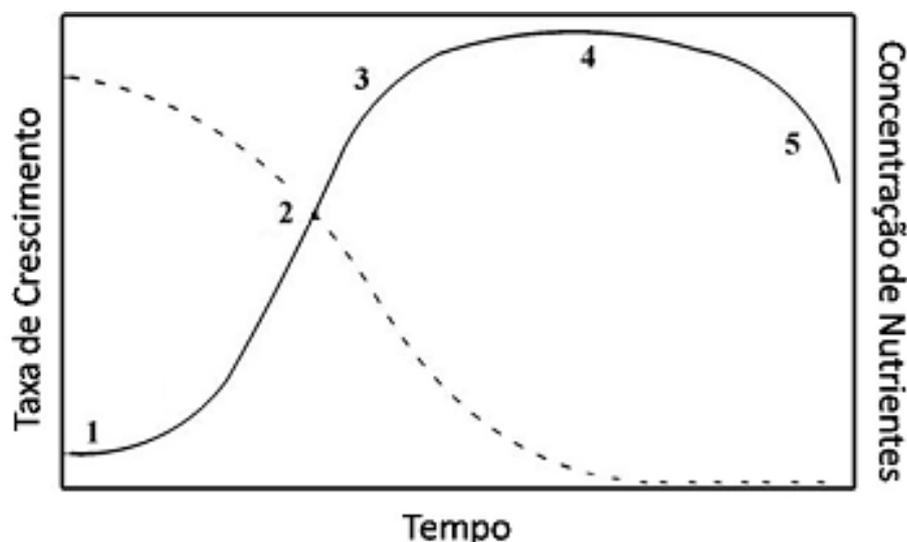
O glicerina bruta não pode ser utilizado por indústrias que requerem um composto mais puro como, por exemplo, a alimentícia, a farmacêutica e a de cosméticos, e novos usos para ele devem ser viabilizados (Franco, 2011).

Para evitar problemas futuros devido ao acúmulo do glicerol e para tornar a produção de biodiesel com maior viabilidade econômica, se faz necessário a busca de medidas alternativas para o uso da glicerina bruta. Por isso, um dos possíveis aproveitamento é seu uso na composição de meios de cultura para crescimento de microrganismos em processos biotecnológicos que levem à produção de compostos químicos de relevância comercial - etanol, ácido succínico, ácido propiônico, ácido cítrico, pigmentos, biosurfactante, biopolímeros (Franco, 2011).

3.7. Crescimento das microalga

Em condições favoráveis, as microalgas poderão crescer rapidamente, duplicam o número de células por um período de 24h ou menos durante a fase de crescimento exponencial. Um dos métodos para avaliar o crescimento é o aumento da densidade celular que pode ser percebida através da curva de crescimento apresentada na Figura 1.

Figura 1. Curva de crescimento de uma cultura microalgal em relação a disponibilidade de nutrientes.



Fonte: MATA et. al (2010)

Curva expressa o crescimento celular e o esgotamento de nutrientes em função do tempo (MATA, et al., 2010), dividida nas seguintes fases:

1. **Fase de Indução ou Fase Lag:** ocorre após a inoculação das células, podendo ocorrer uma redução na densidade celular devido a adaptação ao meio;
2. **Fase Exponencial ou Fase Log:** caracterizada pelo crescimento na qual a biomassa se duplica a cada geração, a duração dessa fase varia dependendo das características genéticas dos microrganismos;
3. **Fase de Diminuição do Crescimento Relativo:** nesta fase acontece redução na taxa de crescimento celular, devido à redução de nutrientes (que foram assimilados pelas microalgas) e da intensidade luminosa devido ao aumento da densidade celular no meio de cultivo;
4. **Fase Estacionária:** nesta fase a taxa de crescimento está na mesma proporção que a taxa de mortalidade devido aos fatores limitantes do meio a duração dessa fase depende da taxa de divisão celular;

- 5. Fase de declínio:** É a fase de morte celular em que as células perdem a capacidade de se duplicar, em razão ao esgotamento de nutrientes e ao autossombreamento, há possível ocorrência de um nível tóxico de metabólitos (DERNER et al., 2006).

3.8 Tipos de cultivos

Conforme a fonte de carbono empregada, os cultivos de microalgas podem ser classificados em três tipos:

- a) Heterotrófico: o fornecimento de carbono é realizado pela introdução de compostos orgânicos apropriados ao meio de cultura (glicose, glicerol, entre outros);
- b) Mixotrófico: o carbono é disponibilizado tanto por meio de compostos orgânicos quanto pelo CO₂ atmosférico (CO₂ inorgânico);
- c) Autotrófico: a única fonte de carbono disponibilizada é o CO₂ inorgânico. Neste caso, o carbono inorgânico pode estar na forma de CO₂, ácido carbônico (H₂CO₃), bicarbonato (HCO₃⁻) ou carbonato (CO₃²⁻). A maioria das espécies das microalgas são fotoautotrófica, ou seja, através da fotossíntese obtém-se energia da luz para fixar o carbono a partir do CO₂.

O cultivo mixotrófico garante maior rendimento de biomassa no qual atuam o metabolismo heterotrófico e autotrófico, e a microalga ao mesmo tempo assimila o CO₂ autotroficamente e o carbono orgânico disponível. Algumas espécies de microalgas estabelece rendimento muito maior quando cultivadas em regime mixotrófico. A fonte de carbono é um dos principais componentes na produção de biomassa microalgal (RADMANN et al., 2009).

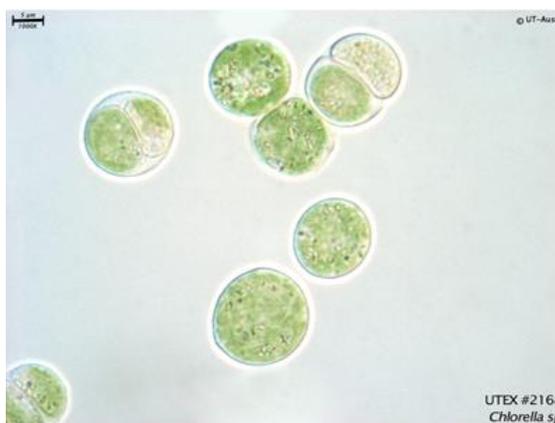
O dióxido de carbono (CO₂) é a fonte de carbono preferencial das microalgas, difundindo passivamente do meio de cultivo ao meio intracelular e utilizando diretamente nos processos de fixação de carbono (DERNER, 2006). Portanto, com a adição de CO₂ no meio de cultivo pode aumentar em até sete vezes a multiplicação celular enquanto que a redução da disponibilidade de carbono pode ser fator limitante para o crescimento microalgal (MORAIS, 2011).

4- METODOLOGIA

4.1. Microalga

Foram utilizadas cepas da espécie de microalga *Chlorella* sp existentes no Laboratório de Saneamento da UEPB, para o presente estudo. As mesmas foram fornecidas pelo Laboratório de Biotecnologia Alimentar da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e pelo Laboratório de Biologia Marinha da Universidade Federal Fluminense (UFF). A Figura 2 mostra a fotomicrografia das cepas de *Chlorella* sp utilizadas em todo o estudo.

Figura 2. Fotomicrografia da microalga *Chlorella* sp



Fonte: <http://web.biosci.utexas.edu/utex/algaeDetail.aspx?algaeID=4630>

4.2. Meio de cultura

O meio sintético utilizado para o cultivo da *Chlorella* sp foi o BBM suplementado com extrato de levedura. A partir das culturas mantidas em meio sólido, em tubos de ensaios, foram desenvolvidas novas culturas em meio líquido através de repiques de cultivo durante a fase exponencial do crescimento da microalga.

4.3. Resíduos líquidos suplementados aos meios de cultivo

Foram avaliados quatro resíduos líquidos de grande impacto ambiental: glicerina, vinhaça, efluente de UASB e efluente de Filtro Anaeróbico.

O primeiro estudo foi realizado com a suplementação da Glicerina no meio de cultivo. Depois foi utilizada a vinhaça, resíduo líquido da indústria sucroalcooleira, como fonte de carbono adicionada ao meio de cultivo, que foi disponibilizada pelo Engenho Triunfo,

indústria de cachaça situada no município de Areia-PB. Utilizou o meio líquido oriundo da separação por centrifugação. Foi utilizado ainda efluentes do UASB e do Filtro Anaeróbio.

Para evitar a deterioração dos materiais em estudo os resíduos e os efluentes foram acondicionados sob refrigeração.

4.3.1. Análise de demanda química de oxigênio (DQO)

A análise de DQO foi realizada para determinar o potencial poluidor da vinhaça e dos efluentes empregados no estudo.

O procedimento residiu na oxidação da matéria orgânica da vinhaça utilizando-se o dicromato de potássio como oxidante. A reação ocorreu sob altas temperaturas, em meio fortemente ácido pela adição de ácido sulfúrico e na presença do catalisador, sulfato de prata. Após a oxidação da matéria orgânica presente na amostra obteve-se a DQO por meio da utilização do espectrofotômetro DR2000, com o comprimento de onda de 600 mm.

4.3.2. Pré-tratamentos físico e químico

O pré-tratamento físico da vinhaça consistiu em deixá-la decantando em frascos erlenmeyers, com capacidade volumétrica de 1L, por 24 horas para retirada de materiais em suspensão. Já o efluente do UASB e Filtro anaeróbico além de seguir o mesmo processo supracitado, foram filtrados com papel de filtro com o objetivo de reter possíveis sólidos suspensos.

Para um melhor desempenho do metabolismo celular, optou-se pela correção do pH da vinhaça como pré-tratamento químico. Uma solução de hidróxido de sódio com concentração 10% foi adicionada à vinhaça corrigindo seu pH de, aproximadamente, 3,5 para pH 7.

4.3.3. Separação do resíduo de cultivo

A biomassa foi separada do resíduo de cultivo por meio de centrifugação. O equipamento utilizado na separação foi uma centrífuga da marca TARFEC- Mod – CP0603 de alta rotação mantendo a rotação de 3000RPM durante 8 minutos.

A biomassa foi seca em estufa a uma temperatura de $\pm 60^{\circ}\text{C}$ para evitar alterações bioquímicas, e armazenada para um posterior estudo da composição química e perfil de ácidos graxos.

4.4. Aclimação química e física dos cultivos

Após os pré-tratamentos físico e químico, a vinhaça foi adicionada ao meio de cultura, nas proporções 5%, 10% e 15%, e sua reutilização nas proporções de 25%, 50%, 75% e 100%. Já os efluentes do tratamento de esgoto doméstico foram adicionados ao meio de cultura nas proporções de 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 80% e 100%, bem como foram utilizados sem a adição do BBM.

Durante o cultivo, manteve-se a iluminação proveniente de lâmpadas fluorescentes de 40W, por período de 12hs. Utilizando Erlenmeyers como fotobioreatores.

As condições físicas mantidas foram: temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$, agitação por meio de aeração constante realizada por injeção de ar comprimido e iluminação proveniente de lâmpadas fluorescentes de 40W. A Figura 3 mostra o cepário de desenvolvimento das microalgas com as devidas aclimações físicas.

Figura 3. Aclimação dos cultivos



Fonte: Autor

As diferentes concentrações da glicerina, da vinhaça e dos efluentes de UASB e Filtro Anaeróbio foram adotadas com intuito de verificar em qual proporção de cultivo a *Chlorella* sp teria uma melhor adaptação, que foi verificada a partir do crescimento celular.

4.5. Estudos do crescimento celular da *Chlorella* sp

O crescimento microalgal foi estimado com a densidade celular em função do tempo de cultivo. A densidade celular da biomassa, cultivada em laboratório, foi determinada diariamente através da microscopia óptica com aumento de 400x por contagem de células em câmara de Neubauer e expressa em número de células por mililitro de cultivo (células.mL⁻¹).

Esse procedimento foi repetido a cada 24 horas da inoculação e para uma melhor compreensão do crescimento da *Chlorella* sp, a contagem diária das células foi realizada em triplicata. Com isso, foram elaborados gráficos de dispersão que assemelham-se as curvas de crescimento da espécie em estudo, nos quais, plotou-se no eixo da ordenada o número de células.mL⁻¹ e no eixo da abscissa o tempo de cultivo em dia. Da mesma forma, se procedeu nos estudos referentes à utilização dos efluentes em adição ao BBM.

O tempo de cultivo, expresso em dias, foi definido como o número de dias passados desde o início da inoculação que corresponde ao início da fase lag, período em que as células estão se adaptando ao meio, até atingir a fase estacionária, na qual é alcançado o número máximo da densidade celular.

4.6. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foi realizado um planejamento fatorial 2², através do pacote computacional STATISTIC 12. As variáveis chamadas de independentes foram o tempo expresso em dias e a concentração do meio de cultura expressa em porcentagem cujos níveis (-1 e +1) corresponderam ao 1º dia de cultivo e ao início da fase lag; 5% e 100% para utilização dos efluentes de UASB e Filtro Anaeróbio; 5% e 15% para a utilização da vinhaça; 25% e 75% para a utilização da reutilização da vinhaça e 2% e 10% para a utilização da Glicerina. E como variável dependente foi avaliada o número de células.

Os níveis foram definidos baseados em estudos preliminares realizados cultivos prévios.

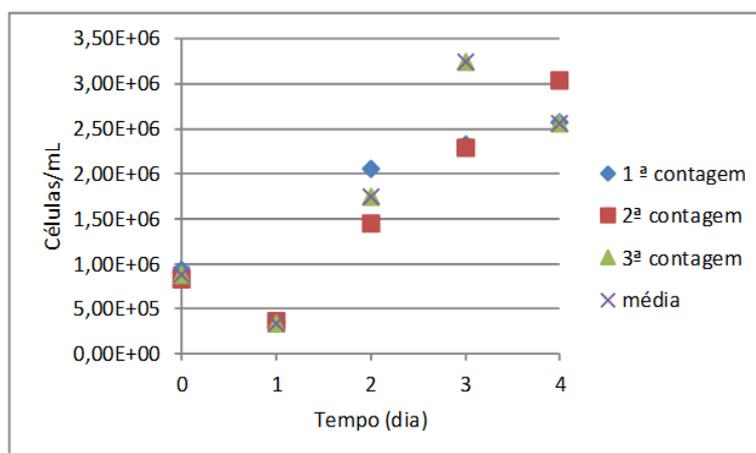
5- RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Meio de cultivo BBM com adição de Glicerina

Os próximos estudos mostram o crescimento do cultivo com adição de glicerina ao meio de cultura promovendo dessa forma um cultivo mixotrófico devido adição de uma fonte orgânica visando dar um destino adequado aos resíduos líquidos, bem como favorecer as reações metabólicas que favorecem o acúmulo de lipídios.

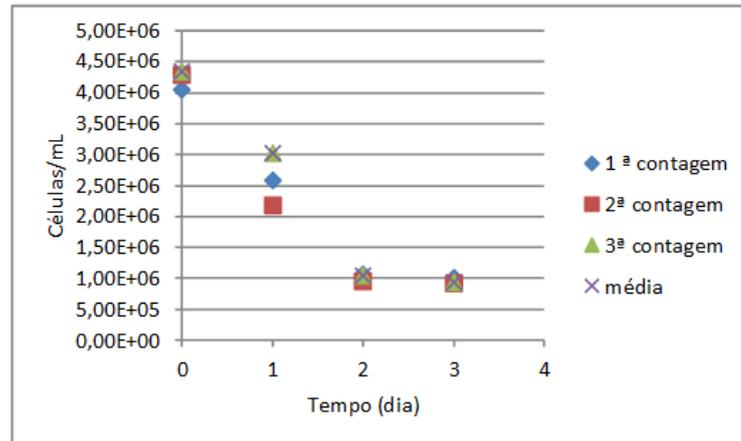
A Figura 4 ilustra o cultivo com adição de 2% de glicerina ao meio de cultura básico de desenvolvimento da *Chlorella* sp, foi observado que houve uma adaptação das células ao novo meio de cultivo, no entanto a taxa de crescimento foi relativamente baixa pois, o número máximo de células obtido foi de $2,7 \times 10^6$ cel.mL⁻¹, conforme pode ser verificado na Figura 4, o que mostra que a espécie em estudo não apresentou crescimento satisfatório para viabilizar a produção de biodiesel, pois, é necessário que ocorra uma alta taxa de crescimento acompanhada com o aumento do conteúdo de lipídios.

Figura 4. Dados experimentais da *Chlorella* sp em cultivo BBM com adição 2% de glicerina.



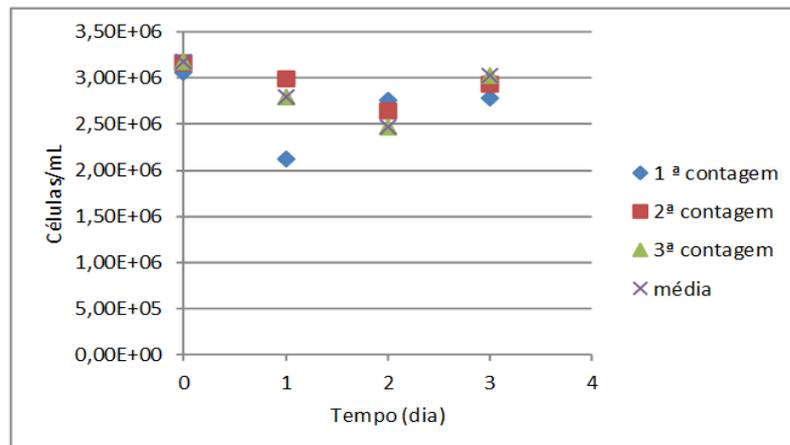
Conforme verifica-se na Figura 5 o cultivo da *Chlorella* sp com adição de 4% as células em estudo não apresentaram taxa de crescimento pois, houve uma fase lag de apenas um dia seguindo para a fase de declínio conforme pode ser observado na Figura 5, pois, o cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $4,2 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ finalizando com um número de células de $9,5 \times 10^5$ cel.mL⁻¹, isto comprova os resultados obtidos no estudo com adição de 2% de glicerina que foi a dificuldade de crescimento da célula com adição da glicerina.

Figura 5. Dados experimentais da *Chlorella* sp em cultivo BBM com adição 4% de glicerina.



Pode-se observar na Figura 6 o estudo com adição de 10% de glicerina ao cultivo com BBM, foi verificado nesse estudo que as células não passaram da fase lag, não conseguindo obter crescimento, o cultivo praticamente não teve incremento de células, pois, foi iniciado com o número de células de $3,1 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$ e finalizou com $3,4 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$. Desta forma, conclui-se que o cultivo com adição de glicerina para a espécie de *Chlorella* em estudo não apresentou resultados satisfatórios para o desenvolvimento da célula, inviabilizando o uso do resíduo em questão para o cultivo de *Chlorella* sp visando a obtenção de lipídios ou outros insumos proveniente da célula em estudo.

Figura 6. Dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com 10% de glicerina



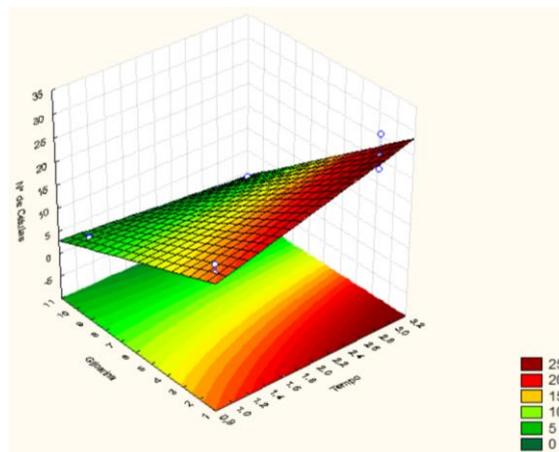
5.1.1 Modelo matemático do crescimento da *Chlorella* em meio BBM com adição de glicerina

A Equação 1 representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de Glicerina.

$$z = 14,18 + 5,36x - 0,90y - 0,63xy \quad (1)$$

O gráfico de superfície resposta, mostrado na Figura 7, foi gerado a partir da Equação 1. Os termos da equação representam a concentração da biomassa, no eixo z, o tempo em x, e a concentração de Glicerina no eixo y.

Figura 7. Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada com glicerina

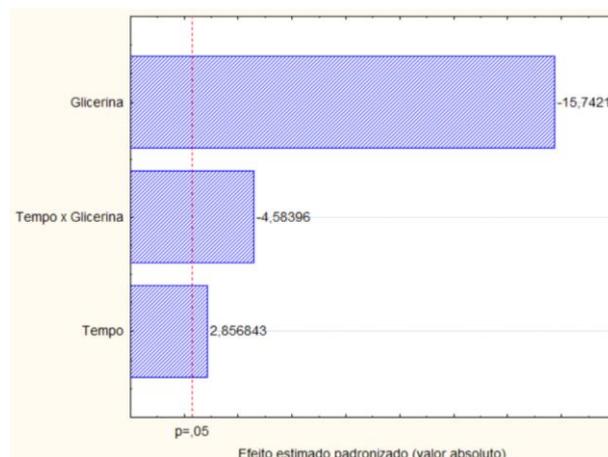


Através da análise do gráfico, apresentado na Figura 7, observa-se que o cultivo se desenvolveu melhor na concentração de 2% apresentando uma maior densidade celular, $3,25 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

5.1.2 Análise estatística do crescimento da *Chlorella* sp cultivada em BBM adicionado glicerina

O crescimento da microalga em meio de cultura BBM suplementado com a adição de glicerina, nas proporções de 2% e 10%, foi avaliado estatisticamente através do gráfico de Pareto, mostrado na Figura 8.

Figura 8. Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima concentração de biomassa utilizando a glicerina em BBM, obtido do planejamento experimental 2².



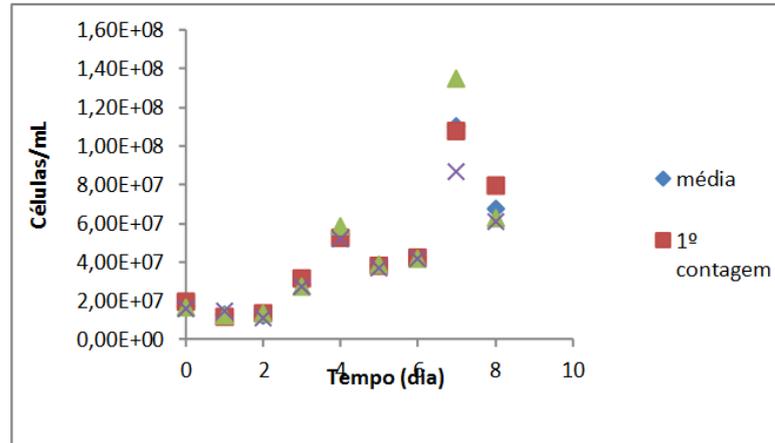
De acordo com o diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 8, as variáveis estudadas são estatisticamente significativa apresentando confiabilidade de 95%, porém a suplementação com a glicerina e interação tempo/glicerina não contribuem positivamente para o aumento da densidade celular, já o tempo foi representativo estatisticamente e influenciou positivamente para o aumento da biomassa de *Chlorella* sp utilizando a glicerina em BBM.

5.2 Meio de cultivo BBM com adição de vinhaça

No estudo ilustrado, na Figura 9, observa-se o crescimento da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM contendo 5% de vinhaça. Verifica-se que o cultivo teve uma ótima taxa de crescimento, atingindo, como média das três contagens, uma densidade celular de $1,25 \times 10^8$ cel.mL⁻¹ em um tempo de cultivo de 7 dias, e no oitavo dia apresentou declínio que pode ter ocorrido pela escassez de nutrientes devido o consumo acelerado por sua alta população.

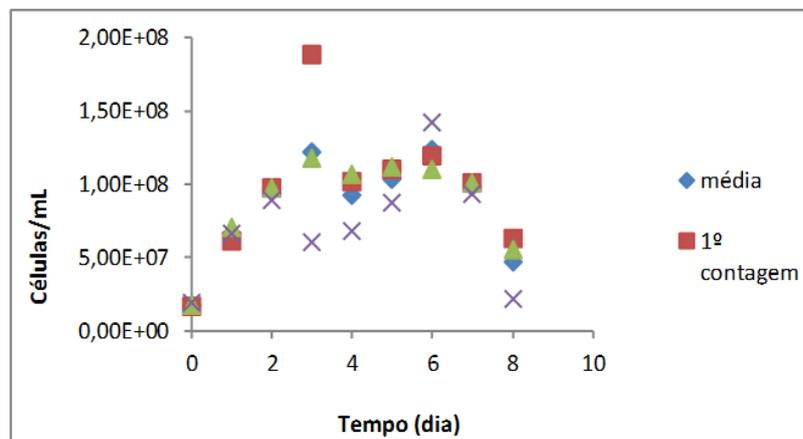
Santos et al, (2010), estudaram o crescimento da *Chlorella vulgaris* em meio de cultura Conway modificado com fotoperíodo de 12 horas em fotobioreatores de vidro de 250mL com intensidade luminosa de 4000lux, obtiveram a densidade máxima celular no oitavo dia cultivo de $2,5 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Porém, estes autores alcançaram resultados melhores quando trabalharam com fotoperíodo integral atingindo o número máximo de células no nono dia de cultivo com um valor de $9,43 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Verifica-se assim, que com a suplementação de vinhaça obteve-se um maior rendimento celular quando comparado com os estudos de Santos et al, (2010).

Figura 9. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 5% de vinhaça



A Figura 10 ilustra a curva de crescimento da *Chlorella* sp na qual foi efetuado o cultivo com adição de 10% de vinhaça ao meio de cultura em fotobioreator. Apresenta uma rápida fase log durante apenas 3 dias, uma fase estacionária com 5 dias de duração, onde não se verifica grandes alterações na densidade celular. O número máximo de células atingidas, em média, foi de $1,24 \times 10^8 \text{ cel.mL}^{-1}$ que se deu no sétimo dia de cultivo e um mínimo de $4,67 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$ no nono dia de cultivo, já apresentando sua fase de declínio. Esse crescimento foi superior a estudos realizado por Vieira (2013) sem adição de resíduos líquidos que após o oitavo dia conseguiu o número máximo de células de $5,9 \times 10^7 \text{ cel.ml}^{-1}$.

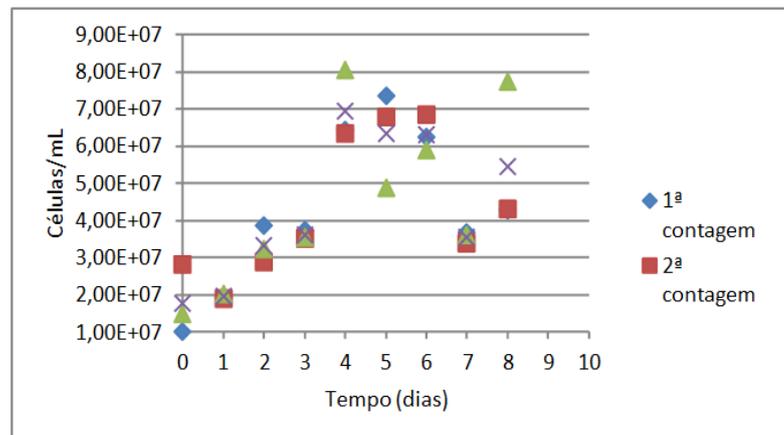
Figura 10. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 10% de vinhaça



Observa-se na Figura 11 a curva de crescimento da *Chlorella* sp, em meio BBM adicionado de 15% de vinhaça. De acordo com o estudo as microalgas apresentaram uma boa

taxa de crescimento. O ponto máximo de crescimento ocorreu no sexto dia com $6,94 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ a partir do nono dia houve um declínio no número de células, chegando a uma população de $3,56 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ no décimo dia de cultivo.

Figura 11. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 15% de vinhaça



Desta forma, conclui-se que a vinhaça, após pré-tratamento (decantação e correção do pH) apresenta características para o desenvolvimento das microalgas em estudo e que houve condições de obter o cultivo mixotrófico com a vinhaça devido à presença de sua carga orgânica e alta produção celular. Vieira (2013) cultivando *Chlorella* sp com vinhaça sem realizar pré-tratamento, obteve uma densidade celular máxima de $1,85 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ na concentração de 15% em quanto que conforme ilustra a Figura 11 em mesma concentração obteve $8,05 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

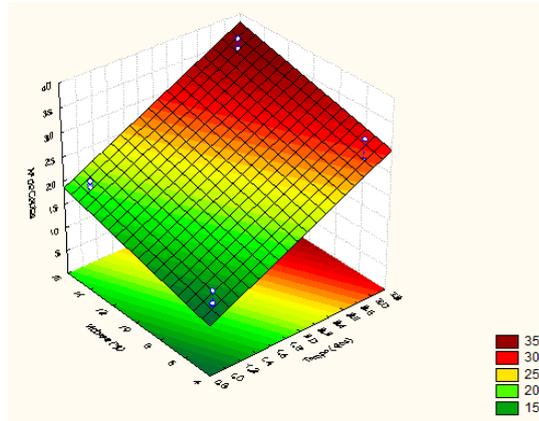
5.2.1 Modelo matemático do crescimento da *Chlorella* com adição de vinhaça ao meio de cultivo

A Equação 2 representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de vinhaça.

$$z = 1,616 + 7,833x + 0,643y + 0,0266xy \quad (2)$$

A partir da Equação 2 gerou-se o gráfico de superfície resposta, ilustrado na Figura 10, o qual representa a concentração da biomassa, representada pelos eixo z, em função das variáveis tempo, eixo x, e concentração de vinhaça, eixo y.

Figura 12. Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com vinhaça

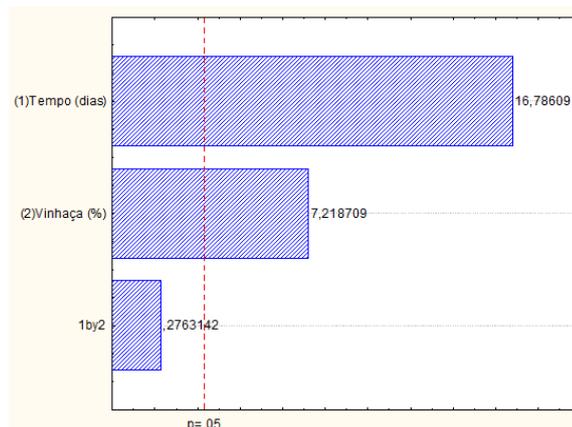


O estudo ilustrado na Figura 12 mostra que, para os 3 primeiros dias de cultivo, o experimento que apresentou uma maior densidade celular foi o cultivo da *Chlorella* em BBM adicionado de 15% de vinhaça, com $3,60 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, por outro lado o experimento com 5% de vinhaça apresentou menor valor de densidade celular com $1,87 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

5.2.2 Análise estatística do crescimento da *Chlorella* com adição de vinhaça ao meio de cultivo

O crescimento da *Chlorella* sp em meio de cultura BBM suplementado com a adição de vinhaça, nas proporções de 5%, 10% e 15%, foi avaliado estatisticamente através do gráfico de Pareto.

Figura 13. Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando a vinhaça como fonte orgânica de carbono



Pode ser observado através do diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 13, que as variáveis estudadas são estatisticamente significativa apresentando confiabilidade de 95%, o tempo de cultivo assim como a suplementação com a vinhaça contribuem positivamente para o aumento da densidade celular, já a interação tempo/vinhaça não são significativos, não interferindo no estudo.

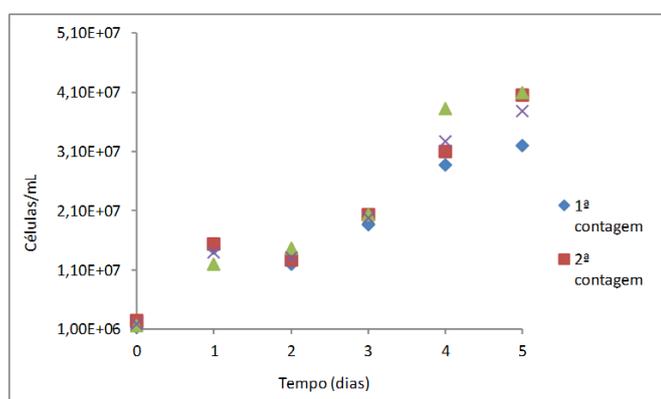
Verifica-se que para os menores valores de concentrações de vinhaça no cultivo obtém-se maior densidade celular, mas o aumento da proporção de vinhaça não prejudica a produção de biomassa, podendo assim, ser utilizada para a produção de biocombustíveis evitando que seja mais um fator de degradação ambiental.

5.2.3 Meio de cultivo BBM com adição de resíduo de cultivo (BBM + vinhaça)

O presente estudo foi realizado com o resíduo líquido, oriundo da centrifugação do cultivo, de um cultivo de *Chlorella* em meio BBM adicionado 10% de vinhaça como matéria orgânica.

A Figura 14 ilustra a curva de crescimento da microalga em meio BBM com adição de 25% do resíduo líquido da centrifugação. A mesma apresentou uma rápida adaptação e uma média de densidade celular máxima de $3,78 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ no quinto dia de cultivo, partindo de uma população de $1,82 \times 10^6$ cel.mL⁻¹.

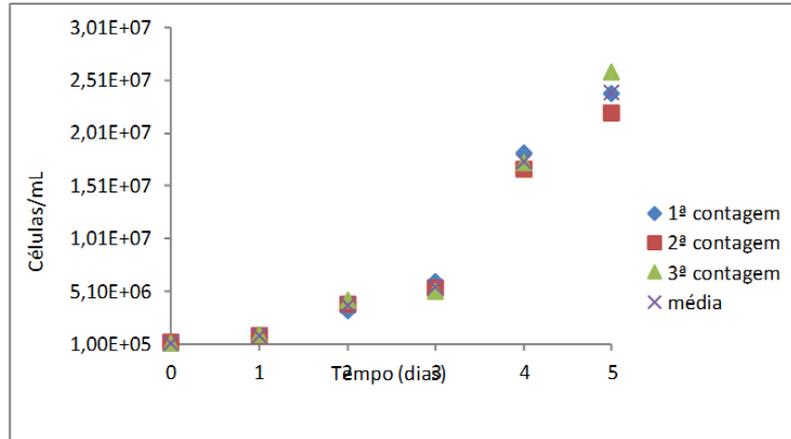
Figura 14. Dados experimentais da *Chlorella* sp com adição de 25% de resíduo BBM + vinhaça



A curva de crescimento da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 50% do resíduo líquido da centrifugação, é mostrada na Figura 15, abaixo. O cultivo partiu de uma população $1,77 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,39 \times 10^7$

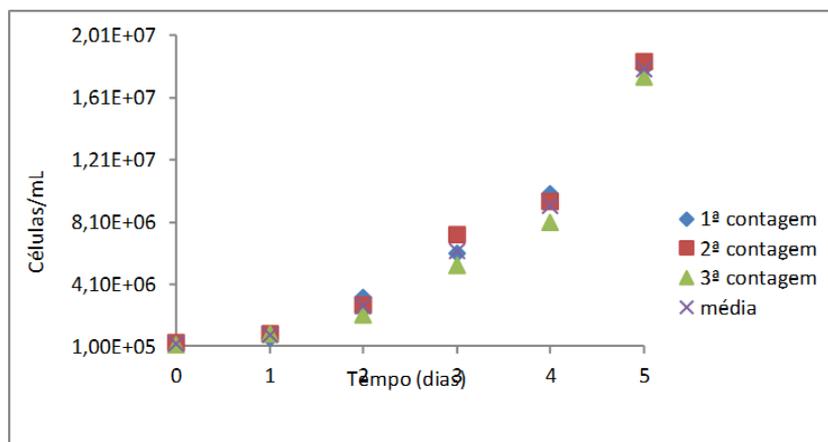
cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta uma fase de adaptação lenta, mas com uma alta taxa de crescimento.

Figura 15. Dados experimentais da *Chlorella* sp com adição de 50% de resíduo BBM + vinhaça



A Figura 16, representa a curva de crescimento da *Chlorella* sp em BBM com adição de 75% do resíduo líquido da centrifugação. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $2,58 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e apresentou no quinto dia uma população de $1,79 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Uma boa taxa de crescimento. Devido sua concentração de nutrientes o reuso do sobrenadante implica em diminuir o impactos ambiente de seus descarte, bem como reduzir custos produtivos uma vez que utilizará menor quantidade do meio sintético.

Figura 16. Dados experimentais da *Chlorella* sp com adição de 75% de resíduo BBM + vinhaça

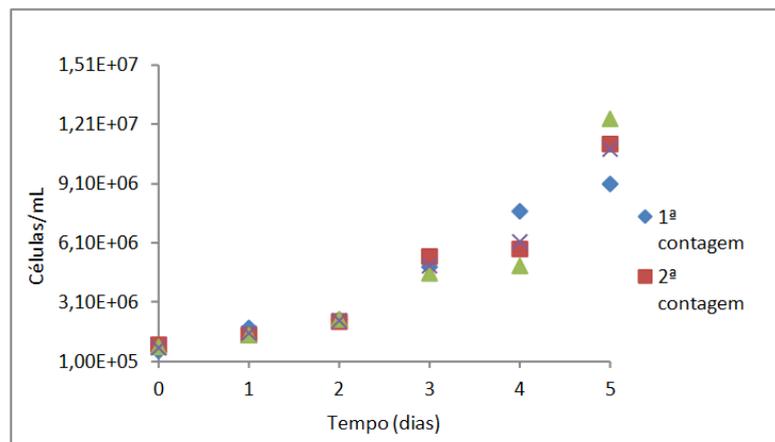


A curva de crescimento da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 100% do resíduo líquido da centrifugação é ilustrada na Figura 17. O cultivo se iniciou com uma

densidade populacional média de $7,81 \times 10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$ e no quinto dia apresentou $1,09 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$. A partir da curva verifica-se uma adaptação mais lenta e uma boa taxa de crescimento.

Fernandez (2013) utilizando o cultivo com 100% do permeado da osmose inversa observou a dificuldade no crescimento celular devido a alteração do meio por alguns nutrientes, pois, a separação por osmose inversa produz um permeado com menor concentração de nutrientes dificultando no desenvolvimento das microalgas, embora tenha ocorrido discreto desenvolvimento das microalgas. O número máximo de células foi no nono dia do experimento com uma densidade celular de $3,40 \times 10^6 \text{ cel.mL}^{-1}$, comprovando o potencial da reutilização do sobrenadante.

Figura 17. Dados experimentais da *Chlorella* sp com adição de 100% de resíduo BBM + vinhaça



A adição do resíduo de cultivo, BBM + vinhaça, forneceu matéria orgânica e suplementação nutritiva ao meio. Isso fez com que a microalga pudesse se desenvolver mais o que se verifica pelo aumento na densidade populacional das mesmas.

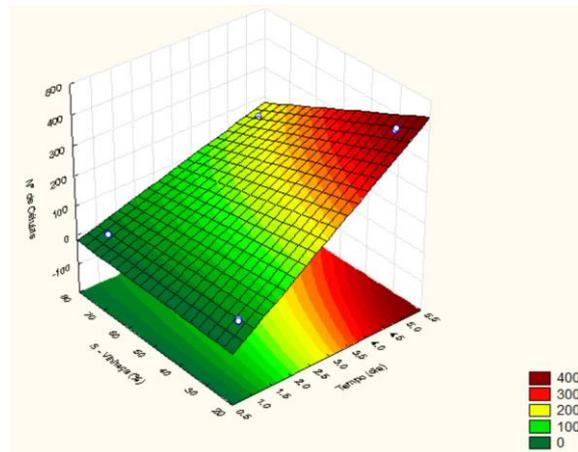
5.2.3.1 Modelo matemático do crescimento da *Chlorella* sp com adição de resíduo do cultivo em BBM adicionado vinhaça

A Equação 3 representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de vinhaça.

$$z = -87,006 + 112,968x + 0,6051y - 0,917xy \quad (3)$$

O gráfico de superfície resposta, mostrado na Figura 18, foi gerado a partir da Equação 3. Os termos da equação representam a concentração da biomassa, no eixo z, o tempo em x, e a concentração de vinhaça no eixo y.

Figura 18. Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa com adição de resíduo do cultivo em BBM

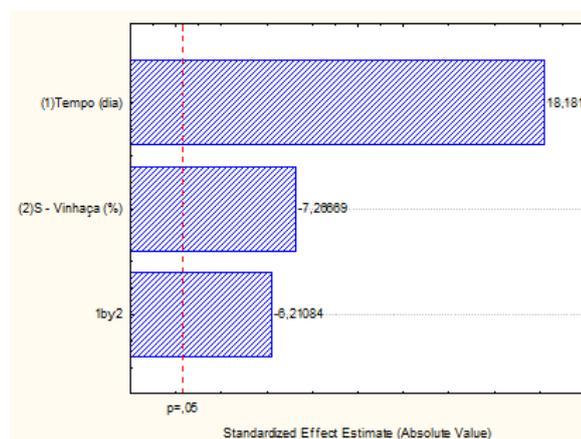


Através da análise do gráfico, ilustrado na Figura 18, observa-se que no quinto dia de cultivo o experimento que apresentou uma maior densidade celular foi o cultivo da *Chlorella* em BBM adicionando 25% do resíduo do cultivo em BBM, com $4,10 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, por outro lado o experimento com 75% de vinhaça apresentou menor valor de densidade celular com $1,84 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

5.2.3.2 Análise estatística do crescimento da *Chlorella* sp com adição de resíduo do cultivo em BBM adicionado vinhaça

O crescimento da microalga em meio de cultura BBM suplementado com a adição de resíduo do cultivo em BBM, nas proporções de 25%, 50% e 75%, foi avaliado estatisticamente através do gráfico de Pareto.

Figura 19. Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima concentração de biomassa utilizando o resíduo de cultivo (BBM + vinhaça) em BBM, obtido do planejamento experimental 2².



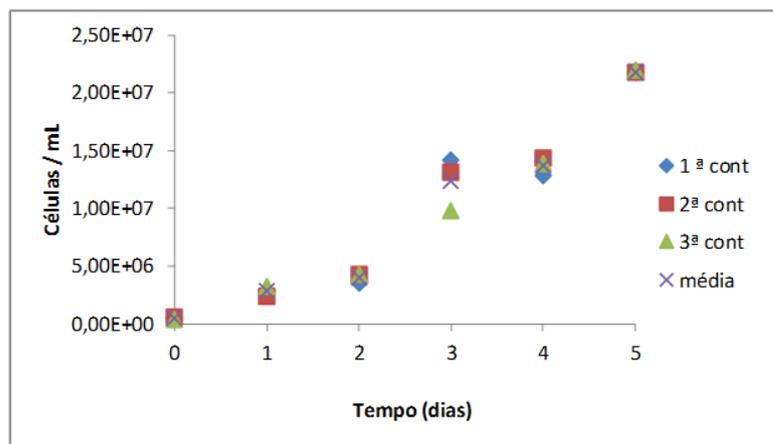
De acordo com o diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 19, as variáveis estudadas são estatisticamente significativa apresentando confiabilidade de 95%, o tempo de cultivo contribui positivamente para aumento celular já a concentração de vinhaça e a interação do meio/tempo não contribuirão para o desenvolvimento da microalga

5.3 Meio de cultivo BBM com adição de Efluente de UASB

O presente estudo foi realizado com a suplementação do efluente de UASB no cultivo de *Chlorella sp* em meio BBM adicionado 5,10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100% como fonte nutricional

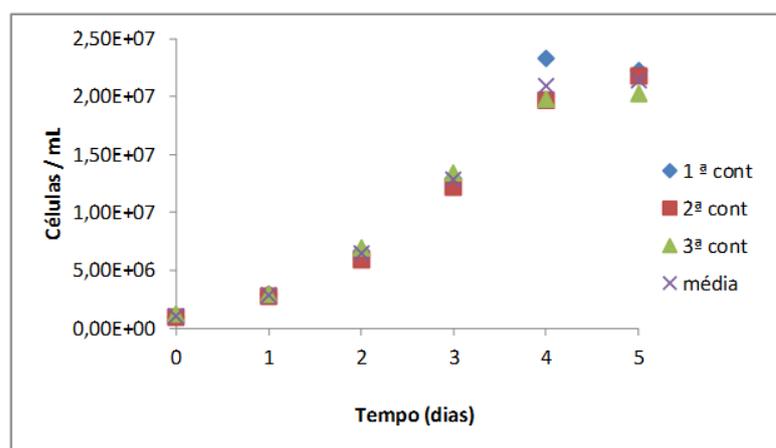
A Figura 20 ilustra os dados experimentais da microalga em meio BBM com adição de 5% do efluente. A mesma apresentou uma rápida adaptação e uma média de densidade celular máxima de $2,18 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ no quinto dia de cultivo, partindo de uma população de $5,11 \times 10^5$ cel.mL⁻¹.

Figura 20. Dados experimentais do crescimento da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 5% de efluente de UASB



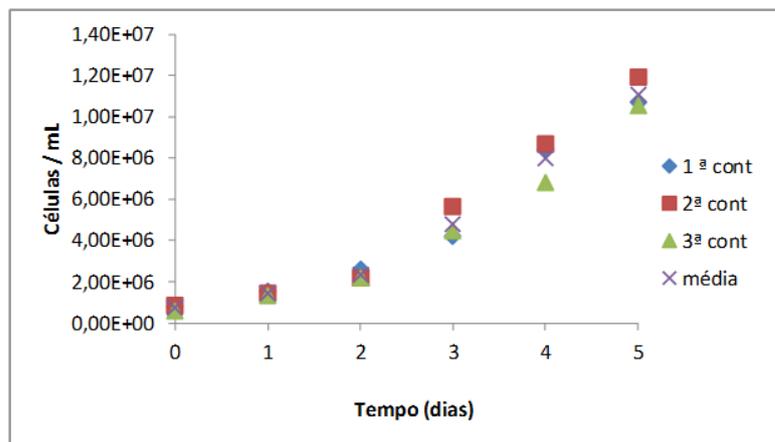
Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 10% de efluente de UASB ao meio de nutrientes, é acurada na Figura 21. O cultivo partiu de uma população $1,05 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,14 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta um crescimento contínuo e com uma alta taxa de crescimento.

Figura 21. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 10% efluente de UASB



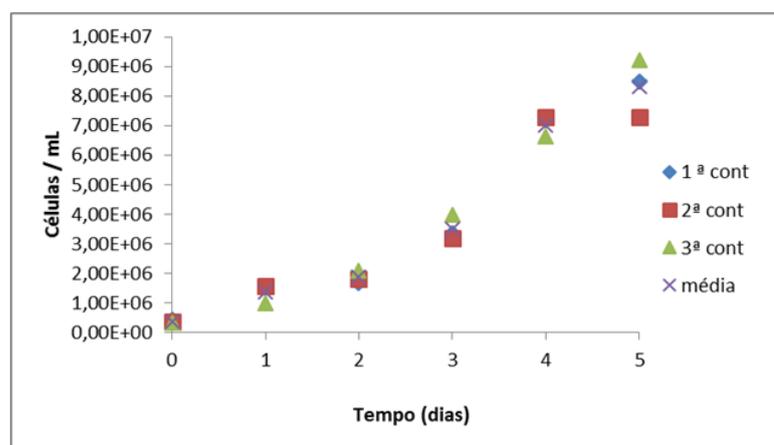
A Figura 22, representa os dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com adição de 20% de efluente de UASB. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $7,38 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e apresentou no último dia uma população de $1,11 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

Figura 22. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 20% de efluente de UASB



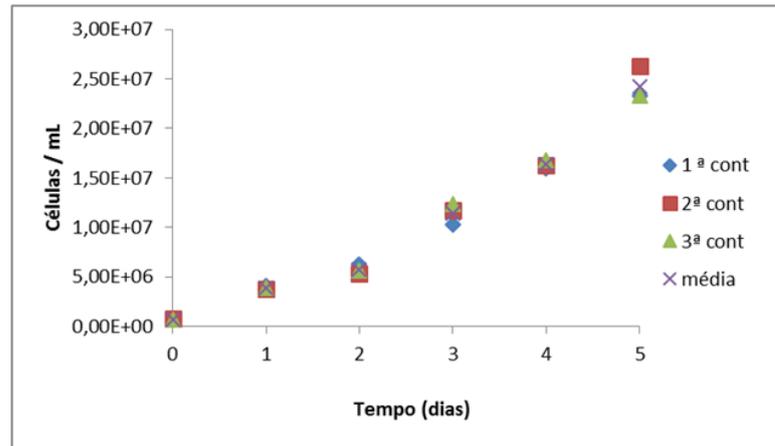
Os dados experimentais da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 30% de efluente de UASB é ilustrada na Figura 23. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $3,73 \times 10^5 \text{ cel. mL}^{-1}$ e ao termino do cultivo apresentou uma população de $8,33 \times 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$.

Figura 23. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 30% de efluente de UASB



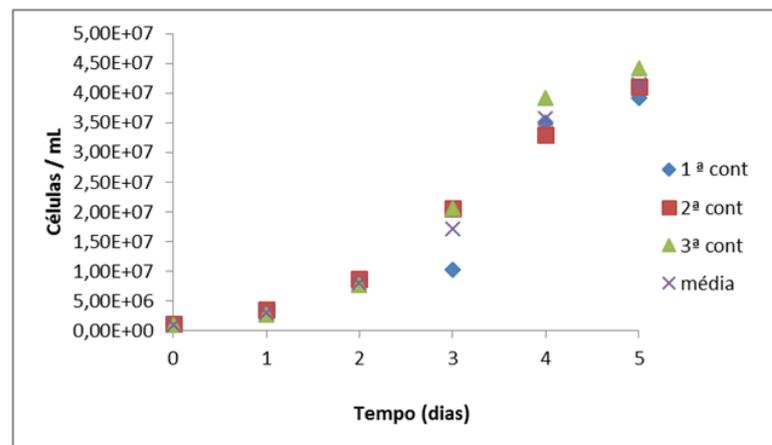
Os dados experimentais da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 40% de efluente de UASB é ilustrada na Figura 24. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $7,18 \times 10^5 \text{ cel. mL}^{-1}$ e ao termino do cultivo apresentou uma população de $2,43 \times 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$.

Figura 24. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 40% de efluente de UASB



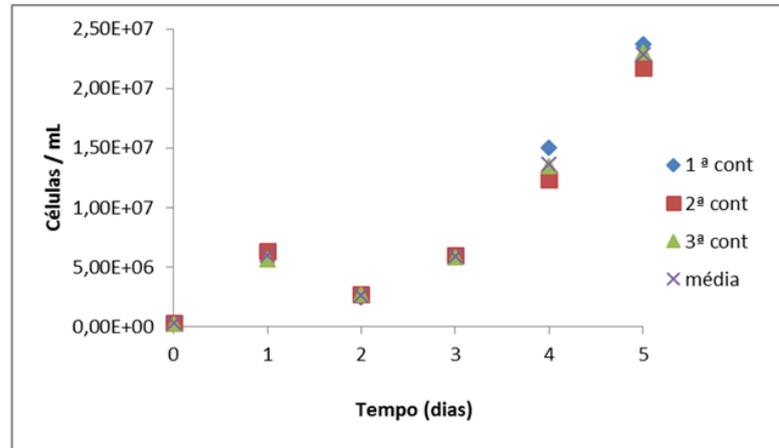
Os dados experimentais da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 60% de efluente de UASB é ilustrado na Figura 25. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $1,05 \times 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$ e ao termino do cultivo apresentou uma população de $4,15 \times 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$.

Figura 25. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 60% de efluente de UASB



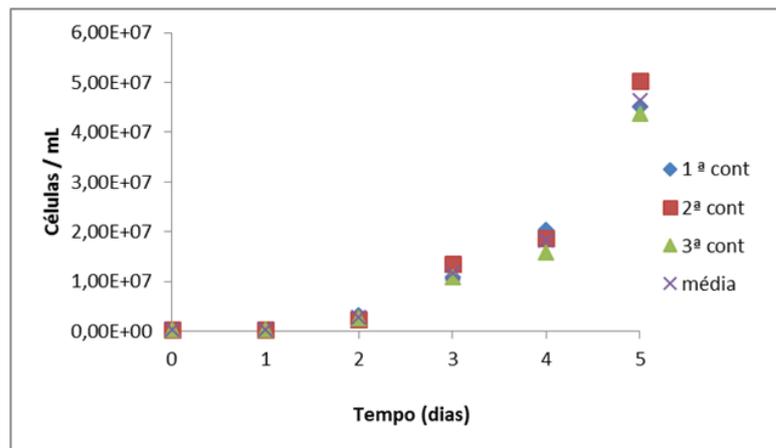
Os dados experimentais da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 80% de efluente de UASB é ilustrado na Figura 26. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $2,83 \times 10^5 \text{ cel. mL}^{-1}$ e ao termino do cultivo apresentou uma população de $2,28 \times 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$. O crescimento mostrou uma instabilidade na adaptação mas após o segundo dia o crescimento foi contínuo.

Figura 26. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 80% de efluente de UASB

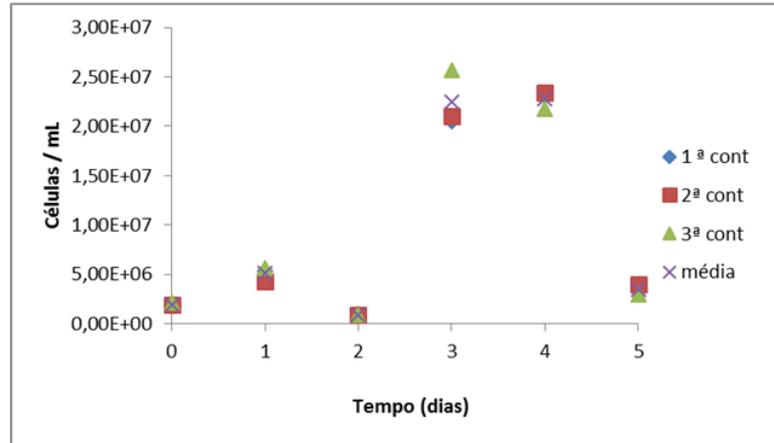


Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 100% de efluente de UASB ao meio de nutrientes, é mostrada na Figura 27, abaixo. O cultivo partiu de uma população $4,18 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $3,40 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta um crescimento contínuo e com uma alta taxa de crescimento.

Figura 27. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 100% de efluente de UASB



Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada apenas com o efluente do UASB, é ilustrado na Figura 28, abaixo. O cultivo partiu de uma população $1,94 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,28 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O crescimento mostrou uma instabilidade na adaptação e após o quarto dia os nutrientes foram totalmente consumidos.

Figura 28. Dados experimentais da *Chlorella* sp com 100% de efluente de UASB

A adição do Efluente do UASB, forneceu matéria orgânica e suplementação nutritiva ao meio. Isso fez com que a microalga pudesse se desenvolver mais, verificado pelo aumento na densidade celular.

O BBM fornece nitrogênio e fósforo na forma de NaNO_3 e K_2HPO_4 no efluente do UASB esses estão quantificados da seguinte forma: N.T.Kjeldahl - $57,50 \text{ mg NTK.L}^{-1}$, N.Amoniacal - $34,19 \text{ mg N-NH}_4^+.\text{L}^{-1}$ e Fósforo Total - $5,70 \text{ mg P.L}^{-1}$, Ortofosfato $3,43 \text{ mg P-PO}_4^-\text{.L}^{-1}$.

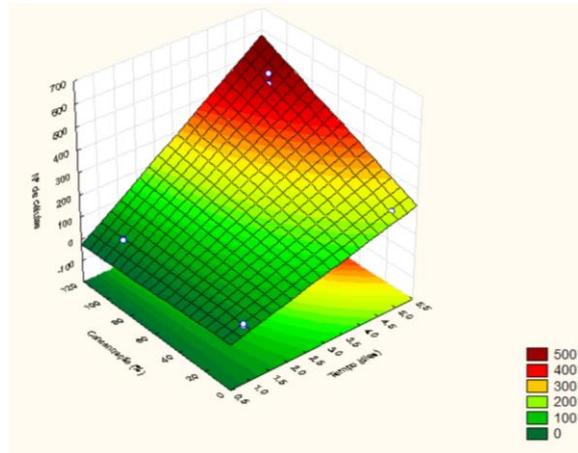
5.3.1 Modelo matemático do crescimento da *Chlorella* em meio BBM com adição de efluente de UASB

A Equação 4 representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de vinhaça.

$$z = -15,73 + 44,29x - 0,60y + 0,638xy \quad (4)$$

O gráfico de superfície resposta, ilustrado na Figura 29, foi gerado a partir da Equação 4. Os termos da equação representam a concentração da biomassa, no eixo z, o tempo em x, e a concentração de efluente de UASB no eixo y.

Figura 29. Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa suplementado com efluente de UASB

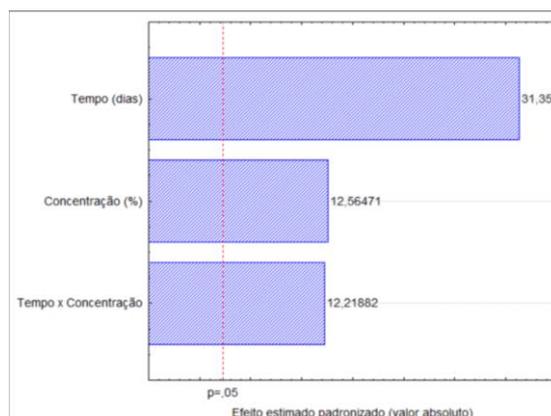


Através da análise do gráfico, ilustrado na Figura 29, observa-se que há uma fase de adaptação e ao final do quinto dia cultivo da *Chlorella sp* em BBM adicionando 100% do efluente apresentou uma maior densidade celular, $5,03 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, mostrando que não houve nenhuma contaminação ou toxicidade que impedisse o crescimento da microalga.

5.3.2 Análise estatística do crescimento da *Chlorella sp* cultivada em BBM adicionado efluente de UASB

O crescimento da microalga em meio de cultura BBM suplementado com a adição efluente de UASB, nas proporções de 5% e 100%, foi avaliado estatisticamente através do gráfico de Pareto.

Figura 30. Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima concentração de biomassa utilizando o efluente de UASB em BBM, obtido do planejamento experimental 2².



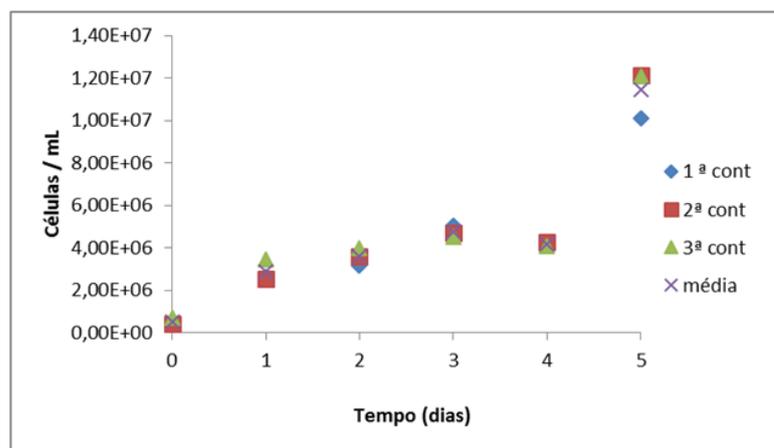
De acordo com o diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 30, as variáveis estudadas são estatisticamente significativa apresentando confiabilidade de 95%, o tempo de cultivo a suplementação com o efluente e a interação entre os ambos contribuíram positivamente para o crescimento celular.

5.4 Meio de cultivo BBM com adição de Efluente de Filtro Anaeróbio

O presente estudo foi realizado com a suplementação do efluente de Filtro Anaeróbio no cultivo de *Chlorella* sp em meio BBM adicionado 5,10, 20, 30, 40, 60, 80 e 100% como matéria orgânica.

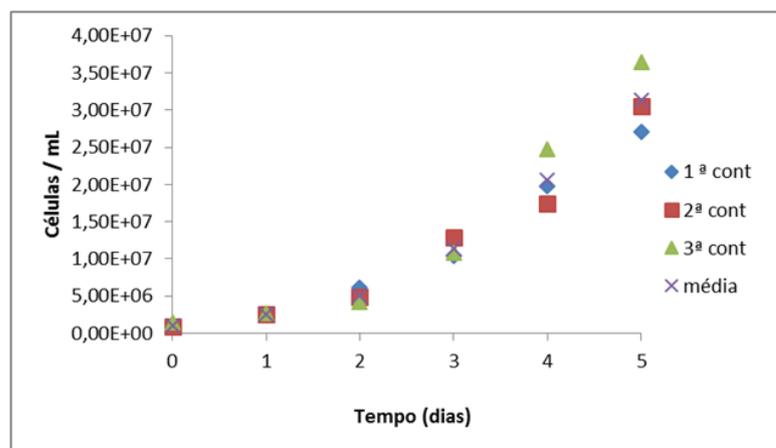
A Figura 31 ilustra os dados experimentais da microalga em meio BBM com adição de 5% do efluente do Filtro anaeróbio. Na adaptação do cultivo o mesmo se manteve estacionado durante os quatro primeiros dias, ao final do cultivo apresentou uma média de densidade celular máxima de $1,15 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, partindo de uma população de $4,99 \times 10^5$ cel.mL⁻¹.

Figura 31. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 5% de efluente do Filtro Anaeróbio



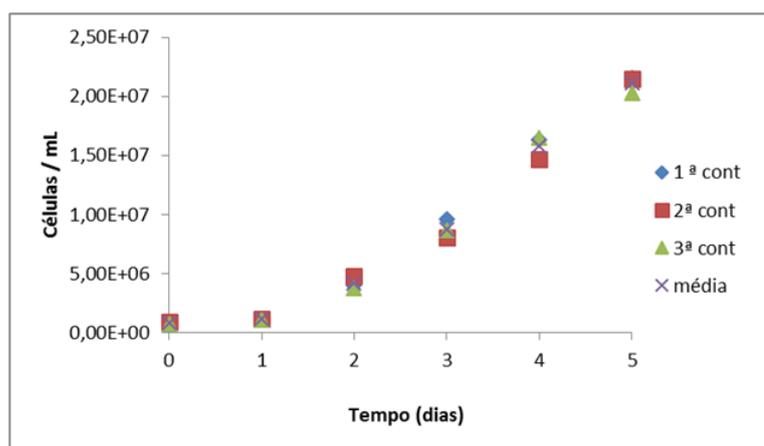
A Figura 32, representa os dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com adição de 10% de efluente do Filtro Anaeróbio. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $1,10 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ e apresentou no quinto dia uma população de $3,13 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Verificou no cultivo um crescimento crescente e contínuo.

Figura 32. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 10% de efluente Filtro Anaeróbio



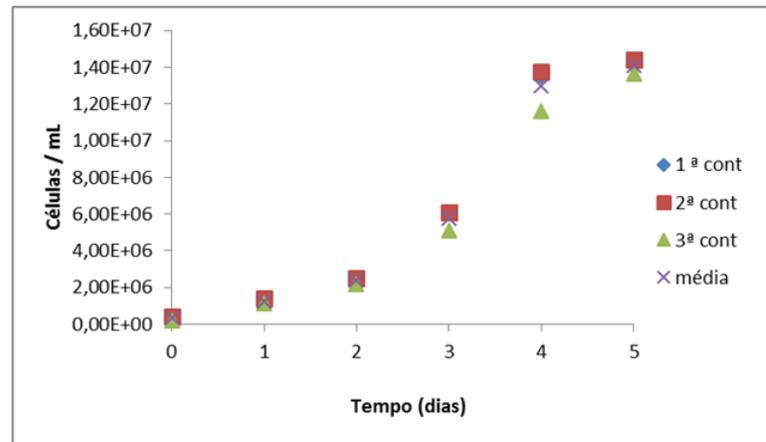
Os Dados experimentais da *Chlorella* sp em meio de cultivo BBM com adição de 20% de resíduo é ilustrado na Figura 33. O cultivo se iniciou com uma densidade populacional média de $8,25 \times 10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$ e no quinto dia apresentou uma população de $2,11 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$. Verificou-se no cultivo crescente adaptação.

Figura 33. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 20% de efluente Filtro Anaeróbio



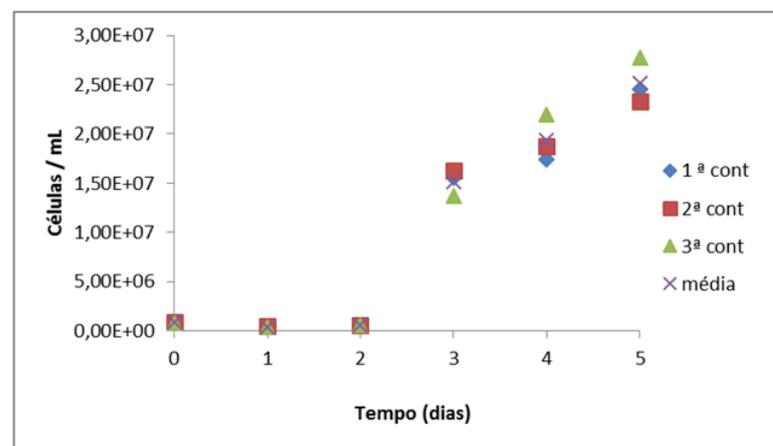
A Figura 34, ilustra os dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com adição de 30% de efluente do Filtro Anaeróbio. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $3,60 \times 10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$ e apresentou no quinto dia uma população de $1,41 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$.

Figura 34. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 30% de efluente Filtro Anaeróbio



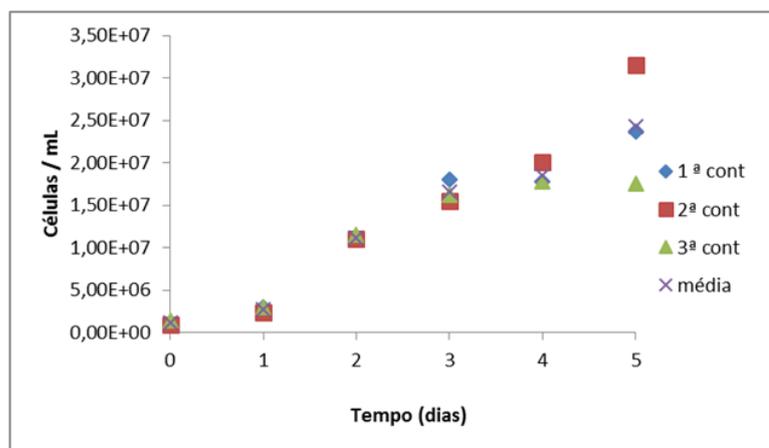
A Figura 35 ilustra os dados experimentais da microalga em meio BBM com adição de 40% do efluente do Filtro anaeróbico. Na adaptação do cultivo o mesmo se manteve estacionado durante os dois primeiros dias, apresentando uma alta taxa de crescimento nos dias seguintes, ao final do cultivo apresentou uma média de densidade celular máxima de $2,52 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, partindo de uma população de $8,69 \times 10^5$ cel.mL⁻¹.

Figura 35. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 40% de efluente do Filtro Anaeróbio



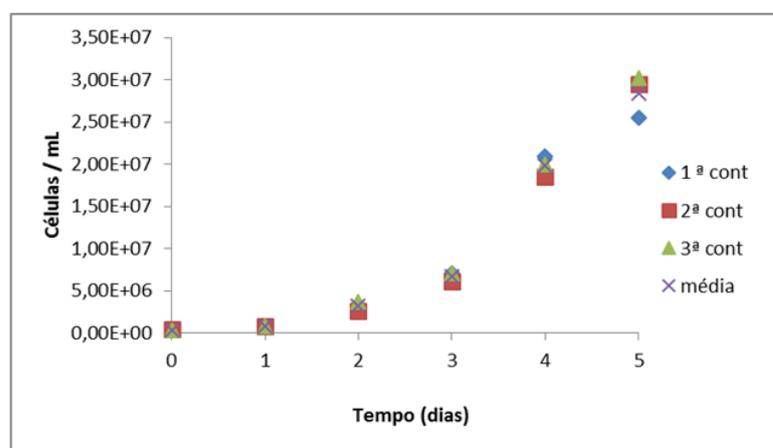
A Figura 36, ilustra os dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com adição de 60% de efluente do Filtro Anaeróbico. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $1,10 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ e apresentou no quinto dia uma população de $2,43 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

Figura 36. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 60% de efluente Filtro Anaeróbio



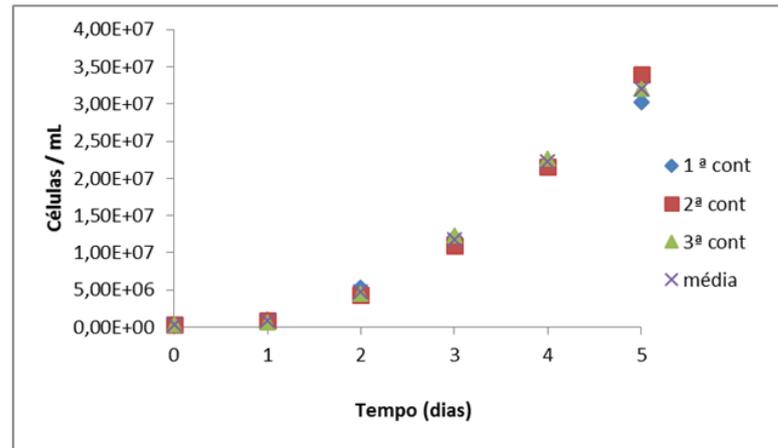
A Figura 37, ilustra os dados experimentais da *Chlorella* sp em BBM com adição de 80% de efluente do Filtro Anaeróbio. O cultivo teve seu início com uma densidade populacional de $3,58 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ e apresentou no quinto dia uma população de $2,84 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

Figura 37. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 80% de efluente Filtro Anaeróbio



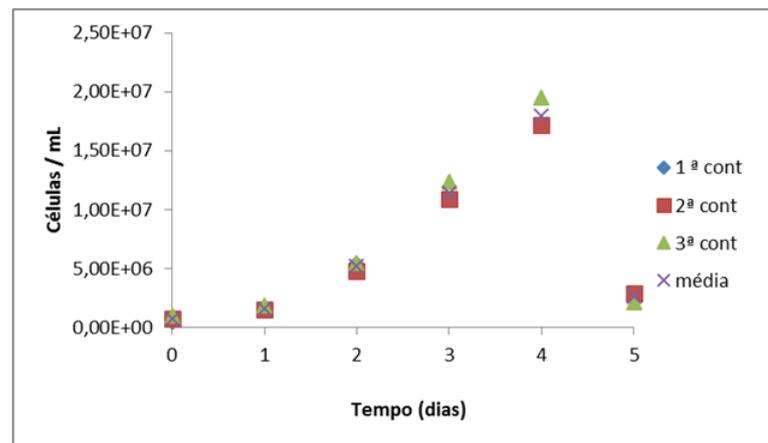
Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada em BBM com adição de 100% de efluente ao meio de nutrientes, é ilustrada na Figura 38, abaixo. O cultivo partiu de uma população $3,83 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $2,22 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. O gráfico apresenta um crescimento contínuo e com uma alta taxa de crescimento.

Figura 38. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada em BBM com adição de 100% de efluente do Filtro Anaeróbio



Os dados experimentais da microalga em estudo, cultivada apenas com o efluente do Filtro Anaeróbio, é ilustrada na Figura 39, abaixo. O cultivo partiu de uma população $7,54 \times 10^5$ cel.mL⁻¹ até atingir uma densidade populacional média de $1,80 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ no quarto dia, consumindo totalmente os nutrientes.

Figura 39. Dados experimentais da *Chlorella* sp cultivada com 100% de efluente do Filtro Anaeróbio



O BBM fornece nitrogênio e fósforo na forma de NaNO_3 e K_2HPO_4 no efluente do Filtro Anaeróbio esses estão quantificados da seguinte forma: N.T.Kjeldahl - 37,61 mg NTK.L⁻¹, N.Amoniacal - 35,12 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ e Fósforo Total - 4,32 mg P.L⁻¹, Ortofosfato 3,86 mg P-PO₄.L⁻¹.

A adição do Efluente do Filtro Anaeróbio forneceu matéria orgânica e suplementação nutritiva ao meio. Isso fez com que a microalga pudesse se desenvolver mais o que se verifica pelo aumento na densidade populacional das mesmas.

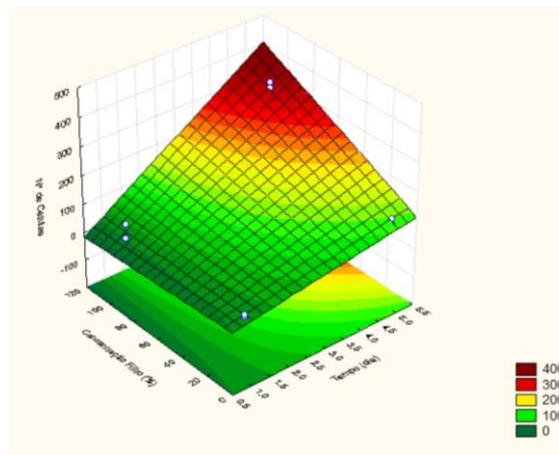
5.4.1 Modelo matemático do crescimento da *Chlorella* com adição de efluente de Filtro Anaeróbio

A Equação 5 representa o modelo matemático reduzido e codificado proposto para analisar a máxima concentração de biomassa em função dos parâmetros tempo e concentração de vinhaça.

$$z = 10,27 + 18,63x - 0,58y + 0,55xy \quad (5)$$

O gráfico de superfície resposta, ilustrado na Figura 40, foi gerado a partir da Equação 3. Os termos da equação representam a concentração da biomassa, no eixo z, o tempo em x, e a concentração de efluente do Filtro Anaeróbio no eixo y.

Figura 40. Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa

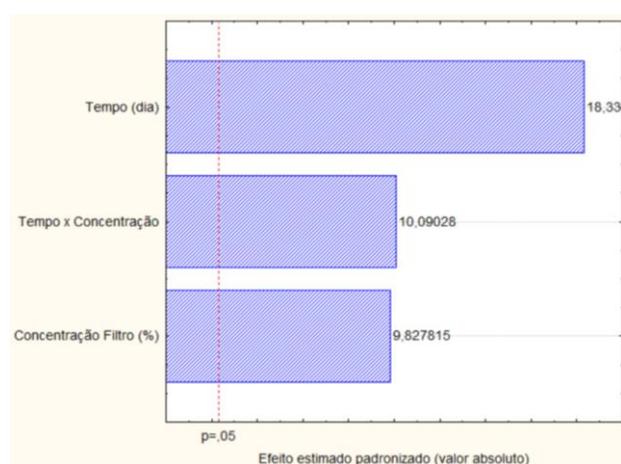


Através da análise do gráfico, apresentado na Figura 40, observa-se que há uma fase de adaptação e ao final do quinto dia cultivo da *Chlorella* em BBM adicionando 100% do efluente apresentou uma maior densidade celular, $3,21 \times 10^7$ cel.mL⁻¹.

5.4.2 Análise estatística do crescimento da *Chlorella sp* com adição de efluente de Filtro Anaeróbio

O crescimento da microalga em meio de cultura BBM suplementado com a adição de efluente de Filtro Anaeróbio ao cultivo em BBM, nas proporções de 5% e 100%, foi avaliado estatisticamente através do gráfico de Pareto.

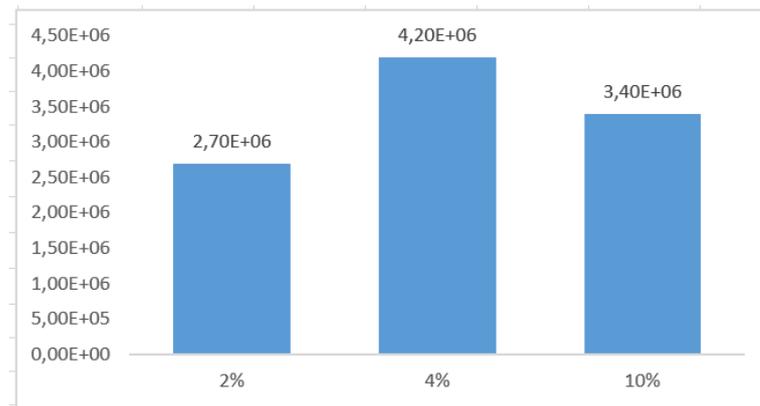
Figura 41. Diagrama de Pareto da máxima concentração de biomassa utilizando o efluente de Filtro Anaeróbio em BBM



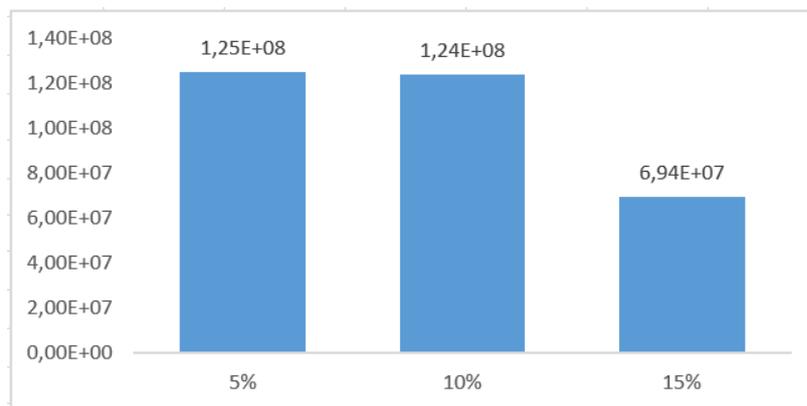
De acordo com o diagrama de Pareto, ilustrado na Figura 41, as variáveis estudadas são estatisticamente significativas apresentando confiabilidade de 95%, o tempo de cultivo, a suplementação com o efluente e a interação entre os ambos contribuem positivamente com o aumento da densidade celular.

5.5 Comparativo dos cultivos

Em relação ao cultivo com a glicerina, Figura 42, o melhor resultado foi obtido com a suplementação de 4%. Nenhum estudo obteve o crescimento celular acima de 10^6 Cel.mL⁻¹ não apresentando um bom desenvolvimento, sendo assim esse subproduto da produção de biocombustível necessita de uma solução mais eficaz.

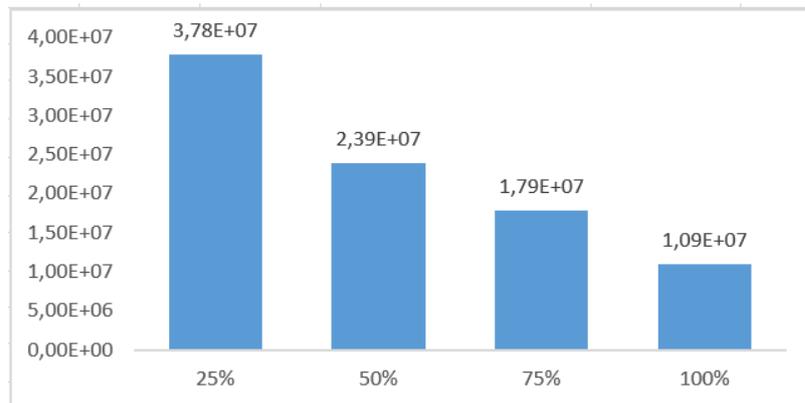
Figura 42. Comparativo entre os cultivos suplementados com a Glicerina

Nos cultivos suplementados com a vinhaça, Figura 43, os melhores resultados foram obtidos a partir das menores concentrações obtendo assim um excelente crescimento celular na grandeza de 10^8 Cel.mL⁻¹. Não foi possível utilizar altas concentrações de vinhaça, pois a espécie em estudo não se adaptou. Candido (2013) Cultivando a *Chlorella vulgaris* com vinhaça após filtração com diferentes materiais conseguiu um incremento na ordem de 10^6 células em 15 dias na concentração de 25%, mas na concentração de 50% o crescimento foi estacionário durante 20 dias.

Figura 43. Comparativo entre os cultivos suplementados com vinhaça

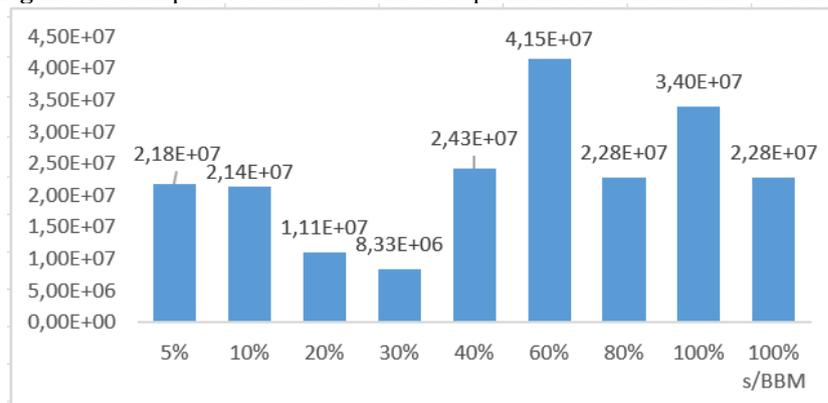
Nos cultivos suplementados com a reutilização dos cultivos com a vinhaça, Figura 44, obteve em todos os estudos ótimo crescimento celular na ordem de 10^7 Cel.mL⁻¹, provando assim a alta concentração de nutrientes e a eficiência de utilizar esse resíduo pela segunda vez, onerando custos energéticos, contudo diminuindo com meio sintético.

Figura 44. Comparativo entre os cultivos suplementado com a reutilização dos cultivos com vinhaça



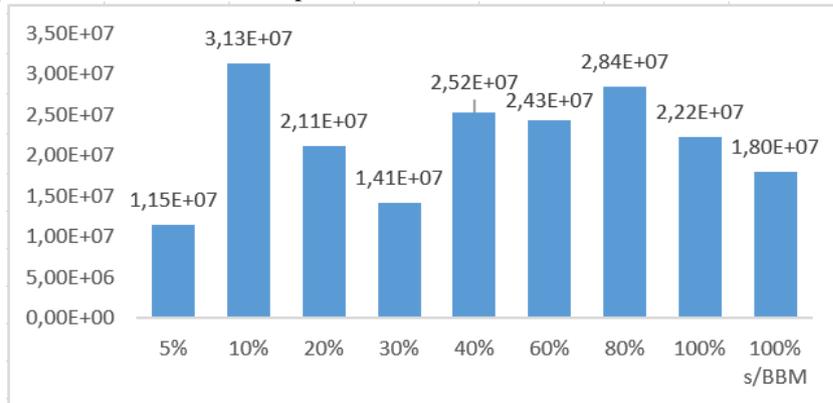
Utilizando a suplementação do efluente de UASB, Figura 45, nos cultivos conseguiu ótimo crescimento celular na ordem de 10^7 Cel.mL⁻¹, foi observado que na utilização de 60% apresentou maior eficiência pra produção de biomassa, não desprezando as demais concentrações, que para cunho ambiental pode ser utilizado em sua totalidade sem suplementação de meio sintético. Rossi (2013) cultivando a *Desmodesmus* e *Scenedesmus* ambas da classe das *Chlorophyceae*, em efluente de UASB obteve maiores concentrações celulares e maior velocidade de crescimento nas concentrações de 50% do efluente.

Figura 45. Comparativo entre os cultivos suplementado com efluente de UASB



Os cultivos suplementados com efluente do Filtro Anaeróbio, Figura 46, apresentaram ótimo crescimento celular, destacando maior eficiência para produção de biocombustível as concentrações de 10 e 80%. Semelhante a utilização do UASB esse pode ser utilizado em sua totalidade sem adição do meio sintético com objetivo de tratamento para o efluente.

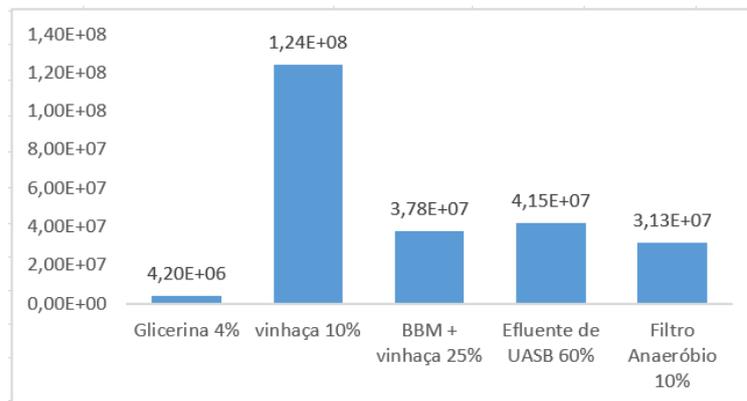
Figura 46. Comparativo entre os cultivos suplementado com efluente de Filtro Anaeróbio.



Dentre todos os experimentos estudados a suplementação com a vinhaça na concentração de 10%, Figura 47, apresentou melhor rendimento, sendo essa a substituição mais viável pra produção de biocombustível, além de ser um destino ambientalmente favorável.

Porém, o uso dos efluentes de UASB e Filtro Aeróbico não inviabiliza o cultivo de microalgas, uma vez que com o mesmo descarta o uso de meio sintético sendo assim o menor custo de cultivo em todos estudos realizados nesta pesquisa e obtendo um excelente crescimento das microalgas em estudo. Dessa forma, poderá ser uma alternativa para incentivar o tratamento de esgoto na região Nordeste, pois poderá ser utilizado o tratamento anaeróbico utilizando seus efluentes para o cultivo de microalgas visando a geração de energia renovável, deste modo dando polimento necessário ao efluente.

Figura 47. Comparativo entre todos os cultivos estudados



6- CONSIDERAÇÕES GERAIS

Através do estudo para o desenvolvimento da microalga, *Chlorella* sp, por meio do uso da vinhaça, rejeito líquido da indústria sucroalcooleira, a glicerina resíduo do biodiesel, como também dos efluentes do tratamento do esgoto doméstico (UASB e Filtro Anaeróbio) como suplementação nutricional, visando a obtenção de biocombustíveis, pode-se concluir:

- O cultivo suplementado com a glicerina não contribuiu para o desenvolvimento da microalga, não sendo viável para produção de biocombustível, esse necessitando de outra solução para um destino mais adequado;
- Embora o cultivo com vinhaça apresentou excelente adaptação das células, sua utilização foi com baixas concentrações, necessitando de outros estudos que viabilizem a utilização desse rejeito.
- O cultivo utilizando resíduo líquido centrifugado oriundo do cultivo de cultivo (BBM) como suplementação nutricional apresentou excelente crescimento celular alcançando a densidade celular, mostrando que mesmo após a supressão dos nutrientes por meio das microalgas esse rejeito não pode ser lançado no ambiente.
- O cultivo suplementado com efluente de UASB apresentou ótimo desenvolvimento celular, mostrando que esse pode ser usado pra produção de biocombustível, bem como pode ser utilizados as microalgas pra remoção dos nutrientes.
- O cultivo suplementado com efluente do Filtro Anaeróbio apresentou ótimo desenvolvimento, e similar ao cultivo com UASB, esse é eficaz pra produção de biocombustível bem como remoção de nutrientes do efluente.

REFERÊNCIAS

- AZEREDO, V.B.S. **Produção de Biodiesel a partir do Cultivo de Microalgas: Estimativa Preliminar de Custos e Perspectivas para o Brasil**, Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2012.
- BAILEY, J.E., OLLIS, D.F. **Biochemical engineering fundamentals**, Ane books India. 2008
- BAUMGARTNER, T.R.S.; BURAK, J.A.M.; KOGIKOSKI, M.E.; SEBASTIEN, N.Y. ARROYO, O.A. **Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo**. Porto Alegre v. 11, n. 2, p. 250-255, 2013.
- BONINI, M.A., **CULTIVO HETEROTRÓFICO DE *Aphanothece* microscópica Nägeli e *Chlorella vulgaris* EM DIFERENTES FONTES DE CARBONO E EM VINHAÇA** Dissertação, 08 de Março de 2012, 112 f, UFSCar.
- BONINI, M.A.; BASTOS, R.G. **Produção de biomassa de *Aphanothece microscópica* e *Chlorella vulgaris* por cultivo heterotrófico a partir de Glicose**. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 33, n. 2, p. 151-160, jul./dez. 2012
- BRASIL, **BIODIESEL Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel**. Disponível em <http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/perguntas.html>, acessado em 09 de julho de 2014.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. **Biofuels from microalgae- a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products**. Renew. Sustain. Energy Rev. 14: 557–577, 2009.
- CANDIDO, C.; LOMBARDI, A.T.; LIMA, M.I.S. **USO DE VINHAÇA PARA O CULTIVO DE MICROALGAS DE ÁGUA DOCE**, XX Congresso de Iniciação Científica da UFSCar, 2013, São Carlos, SP.
- CARERE, C. R., SPARLING, R., CICEK, N., LEVIN, D. B. Third generation biofuels via direct cellulose fermentation. Int. J. Mol. Sci. 9: 1342–1360. 2008
- CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UFMG. 2007
- DEMIRBAS, A. **Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections**. Energy Conversion and Management, 49:2106–2116, 2008
- DEMIRBAS, A. DEMIRBAS, M.F. **Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel**. Springer, 2010
- DERNER, R.B. et al. **Microalgas, produtos e aplicações**. Ciência Rural, v.36, p. 1959-1967, 2006

FARIA, G.R.; PAES, C.R.P.S. CASTRO, D.J.F.A.; TINOCO, N.A.B.; BARBARINO, B.; LOURENÇO, S.O. **Effects of the availability of CO₂ on growth, nutrient uptake, and chemical composition of the marine microalgae *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata*, two potentially useful strains for biofuel production.** International Research Journal of Biotechnology, Vol. 3, p. 65-75, 2012

FERNANDES, M.S.M., **SEPARAÇÃO DE MICROALGAS ATRAVÉS DE MEMBRANAS DE OSMOSE INVERSA E CERÂMICA COM APROVEITAMENTO DO PERMEADO PARA FUTUROS CULTIVOS.** 2013. 72 f. Dissertação UFCG.

FERREIRA, W.B., **APROVEITAMENTO DO CONCENTRADO DA DESSALINIZAÇÃO VIA OSMOSE INVERSA PARA DESENVOLVIMENTO DE *CHLORELLA* SP E *CHORELLA VULGARIS* VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL.** 2012. 148 f. Tese UFCG, 2012.

Fotomicrografia da microalga *Chlorella* sp, disponível em <<http://web.biosci.utexas.edu/utex/algaeDetail.aspx?algaeID=4630>>. Acessado em 05 de Agosto de 2014

FRANCO, P. F. **GLICERINA COMO MATÉRIA-PRIMA PARA MICROORGANISMOS,** 2011 disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/glicerina/glicerina-materia-prima-microorganismos-061211.htm>>, Acessado em 09 de Julho de 2014

LUNDQUIST, T. J., I. C. Woertz, et al. "A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production." Energy Biosciences Institute. p 1-178, 2010

MACHADO, R.M.G., CARLOS AUGUSTO DE LEMOS CHERNICHARO, C.A.L., **AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE FILTROS ANAERÓBIOS UTILIZADOS PARA O POLIMENTO DE EFLUENTES DE UM REATOR UASB.** In: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Fóz do Iguaçu: ABES, 1997.

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

MORAIS, K.C.C. **ANÁLISE E DESENVOLVIMENTO DE AQUICULTURA DA MICROALGA *Phaeodactylum tricornutum* EM CRECIMENTO AUTOTRÓFICO E MIXOTRÓFICO EM FOTOBIOREACTORES COMPACTOS.** 16 de Agosto de 2011, 97 f. Dissertação. UFPR.

NGUYEN, T.H.M.; Vu, V.H., **Bioethanol production from marine algae biomass: prospect and troubles,** Vol. 3, No. 1, p. 25-29, 2012

OLIVEIRA, H. T.; CÁCERES, O. **Resultados preliminares sobre o uso do vinhoto como meio de cultura para 8 espécies de microalgas de água doce.** Acta Limnologica Brasiliensia, v.1, p. 601-610, 1986.

OLIVEIRA, M. **Petroquímica verde.** FAPESP, v.149, p.84-87, 2008

RADMANN, E.; OLIVEIRA, C. F.; ZANFONATO, K.; VIEIRA, J. A. **Cultivo Mixotrófico da Microalga Spirulina sp. LEB-18 com Adição Noturna de Diferentes Fontes de Carbono Orgânico.** XVII Simpósio Nacional de Bioprocessos. Natal-RN, 2009

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.** Blackwell Science, 2004.

Rosillo-Calle, F., Cortez, L. **Towards proalcohol II: a review of the Brazilian bioethanol programme.** Biomass Bioenergy, v14, n2, 115–124. 1998

ROSSI, R.A. **Seleção de microalgas dos gêneros Desmodesmus e Scenedesmus produtoras de lipídeos: otimização do cultivo e aplicação do efluente doméstico de reator UASB como substrato alternativo à produção de biodiesel,** 2013, 138f, Tese, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013

ROSSI, L.F., MATSUMOTO, T., **AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE UM REATOR UASB EM ESCALA PILOTO COM SEPARADOR DE FASES EM FORMA DE "Y" TRATANDO EFLUENTE DE CURTUME.** 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999

SANTOS, L.B.G.; CALAZANS, N.K.F.; MARINHO, Y.F.; SANTOS, A.P.F.; NASCIMENTO, R.D.M.; VASCONCELOS, R.F.L.; MACÊDO, D.M.; GALVEZ, A.O. **Influência do fotoperíodo no crescimento da *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae) visando produção de biodiesel.** p.3, 2010

SAWAYAMA, S., INOUE, S., DOTE, Y., YOKOYAMA, S. Y. **CO₂ fixation and oil production through microalga.** Energy Convers.Manage. 36: 729–31. 1995.

SOUSA, J.T.; VAN HAANDEL, A.C.; COSENTINO, P.R.S.; GUIMARÃES, A.V.A, **Pós-tratamento de efluente de reator UASB utilizando sistemas "wetlands" construídos,** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. vol.4 n°.1 Campina Grande Janeiro/Abril 2000.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. **Commercial applications of microalgae.**J.Biosci.,Bioeng., 101, p.87-96, 2006.

ÚNICA – União das Indústrias de cana-de-Açúcar. Disponível em
<<http://www.unica.com.br>>. Acessado em 7 de setembro de 2011.

VIEIRA, T.Q., **Uso de Resíduos no cultivo da microalga *Chlorella* sp com potencial para produção de biocombustíveis**, Campina Grande, UEPB, 2013