



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL
CURSO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL

LYANNE CIBELY OLIVEIRA DE SOUSA

**ESTUDO DO CULTIVO DA MICROALGA *Chlorella sp* EM EFLUENTES DE
UASB VISANDO INTENSIFICAR O POTENCIAL DE GERAÇÃO DE
BIOCOMBUSTÍVEIS**

CAMPINA GRANDE – PB

2014

LYANNE CIBELY OLIVEIRA DE SOUSA

ESTUDO DO CULTIVO DA MICROALGA *Chlorella sp* EM EFLUENTES DE UASB VISANDO INTENSIFICAR O POTENCIAL DE GERAÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado a Coordenação do 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.

Orientador(a): 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.

S725e Sousa, Lyanne Cibely Oliveira de.
Estudo do cultivo da microalga *Chlorella Sp* em efluentes de UASB visando intensificar o potencial de geração de biocombustíveis [manuscrito] / Lyanne Cibely Oliveira de Sousa. - 2014.

60 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. *Chlorella Sp*. 4. Efluentes. I. Título.

21. ed. CDD 662.8

LYANNE CIBELY OLIVEIRA DE SOUSA

ESTUDO DO CULTIVO DA MICROALGA *Chlorella sp* EM EFLUENTES DE UASB VISANDO INTENSIFICAR O POTENCIAL DE GERAÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado a Coordenação do 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.

Aprovado em: 15 / 12 / 2019

Nota: 9,8 (nove vírgula oito)

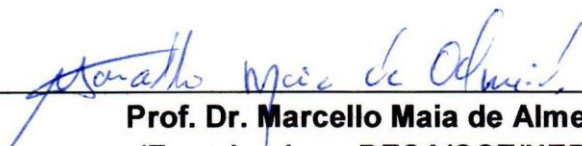
Examinadores:



Prof.ª Dra. Weruska Brasileiro Ferreira
(Orientadora – DESA/CCT/UEPB)



Prof.ª Dra. Hέλvia Walewska Casullo de Araújo
(Examinadora – DESA/CCT/UEPB)



Prof. Dr. Marcello Maia de Almeida
(Examinador – DESA/CCT/UEPB)

AGRADECIMENTOS

Foram longos anos. Caminhando passo a passo em meio aos inúmeros desafios. Sabendo que todas as tribulações geram perseverança e que Deus sempre esteve ao meu lado e me fortaleceu para que eu pudesse concretizar esse sonho compartilhado por todos aqueles que de alguma maneira fazem e fizeram parte da minha história.

Neste momento, torno plena a minha alegria. Hoje agradeço pelos inúmeros aprendizados. E como citado na Bíblia “Ainda que eu tivesse toda a fé, sem amor eu nada seria”. Amor da família. Amor dos amigos. Amor que “tudo sofre, tudo crê, tudo espera e tudo suporta”.

Mãe, não há nada que descreva o que sentimos e compartilhamos ao longo desses anos. Distância. Ausência. Saudade. Palavras que se tornaram constantes em nossas vidas. Aprendemos juntas a transformá-las, fazendo de cada uma delas um grande incentivo. Sou-lhe grata por tudo. Pela incansável solicitude dos cuidados seus. Essa conquista também é sua. É por você.

Pai, que bom poder estar ao teu lado agora. “Em seu mundo a vida se faz de paz e harmonia”. Aprendi contigo a aguardar e confiar. Aprendi contigo a nunca desanimar. E como “um canto que inspira outros cantos”, assim como diz a tua canção, “tu és a minha energia, meu orgulho e minha inspiração”.

Irmã, meu porto seguro. Deus não poderia ser mais generoso. Me concedeu um grande presente. Identidades um tanto opostas, mas com mesma determinação e mesmos desejos. Sua alegria contagia aquele meu silêncio quase impenetrável. Sua vivacidade traz calma para meus anseios.

Meu querido avô (*in memoriam*), meu segundo pai e grande amigo. Em todos os momentos sei que estiveste por perto e me guiaste sabiamente.

Izabel Derlange, me aceitaste como filha. Agregaste novos valores à família. Se doando com carinho. Promovendo a união.

Isaura, minha irmã de coração. “Sempre comigo um pouco atribulada e, como sempre, singular comigo”.

Meu segundo lar: Bianca, Jaqueline, Doralina e Tamires. Agradeço pelos dias alegres, as noites de companhia, as horas de compreensão e pelos corações sempre abertos e receptivos.

Meu refúgio: Lillian, Priscylla, Francisca Marta, Dalene. Agradeço por tornarem o meu dia a dia mais simples e mais leve, pelas palavras e gestos sinceros, pela pureza de seus sentimentos.

Olga, Yohanna, Thiago, Danyllo, Débora, Iana e Tássio, agradeço pela presteza e prontidão, pelos ensinamentos e auxílio para que a construção deste trabalho se tornasse possível.

Aos amigos que adquiri nessa jornada Whelton, Kamila, Daywison, Salomão, Tardelli, Matheus, Henrique, Rodrigo, Ítalo, agradeço pelo companheirismo e por todas as conquistas que conseguimos alcançar juntos.

Expresso minha gratidão a todos os mestres, pelas horas insubstituíveis de aprendizado, convivência e troca de experiências.

Agradeço imensamente a minha orientadora Weruska Brasileiro pelas oportunidades, confiança, suporte e cuidado. Pelos conselhos, compreensão, sabedoria e exemplo de profissionalismo. Pela dedicação, empenho e sensibilidade. Por ser espelho do que representa a minha formação.

Aos professores Marcello Maia e Hélivia Walewska pela disponibilidade e prontidão em aceitar compor a banca deste trabalho.

A todos, muito obrigada!

“Nada fazendo por ambição egoísta ou por vanglória, mas com uma mente humilde, cada um considerando os outros superiores a si mesmo, não considerando cada um suas próprias virtudes, mas também as virtudes dos outros... Tende em vós esta maneira de pensar”.

(Filipenses 2:3-5)

RESUMO

O quadro que caracteriza a sociedade contemporânea revela a importância da reflexão em torno das questões relacionadas ao desenvolvimento de sistemas eficientes para suprir a necessidade energética atual. Com o aumento da consciência ecológica e a ausência de diversificação os investimentos em tecnologias que promovam o avanço das matrizes limpas têm se tornado cada vez mais relevantes. Considerando o esgotamento das fontes de origens fósseis, os biocombustíveis surgiram como alternativa promissora substituindo parcialmente o petróleo e alongando sua vida útil. Neste sentido, as microalgas são uma novidade bem-vinda apresentando grande teor energético, elevado potencial para depuração de águas residuárias além de promover a absorção de CO_2 durante seu processo de crescimento. Esse estudo teve como objetivo promover a produção de biomassa da microalga *Chlorella sp* em meios de cultura suplementados com efluentes de tratamento anaeróbio de esgoto sanitário do reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) para viabilizar a produção de biocombustível. O cultivo da *Chlorella sp* foi realizado utilizando os efluentes em diferentes proporções (10%, 30%, 50%, 60%, 70%, 90% e 100%) como suplementos ao meio sintético *Bold's Basal Medium* (BBM), oferecendo características para seu desenvolvimento. Os cultivos oriundos da centrifugação (50%, 65% e 80%) permitiram o crescimento da microalga viabilizando sua reutilização como suplementação nutricional. A remoção de nutrientes das águas residuárias permite a preservação da qualidade das águas dos corpos receptores de efluentes. A eficiência média de remoção obtida pela *Chlorella sp* foi de aproximadamente 38% para fósforo total e 35% para ortofosfato, equivalente a média de diferentes tipos de tratamento. A microalga *Chlorella sp* apresentou eficiência máxima no cultivo suplementado com 70% do efluente de UASB, obtendo remoção em torno de 64% para ortofosfato e 84% para fósforo total. Desta forma, o estudo permitiu o aproveitamento integral da biomassa gerada possibilitando a integração do uso de resíduos líquidos com a obtenção de biocombustíveis. A viabilidade técnica, ambiental e econômica depende do aprimoramento do processo possibilitando a difusão de seu uso.

PALAVRAS-CHAVE: Biocombustíveis; Microalga; *Chlorella sp*; Efluentes.

ABSTRACT

The framework that characterizes contemporary society shows the importance of reflection on issues related to the development of efficient systems to meet the current energy needs. With increasing environmental awareness and the lack of diversification investments in technologies that promote the advancement of clean arrays have become increasingly important. Considering the depleting supplies of fossil sources, biofuels have emerged as a promising alternative partially replacing the oil and extending its life. In this sense, microalgae are a welcome addition presenting large energy content, high potential for debugging wastewater and promote the absorption of during their growth process. This study aimed to promote the production of biomass of microalgae *Chlorella* sp in supplemented culture media with anaerobic treatment of effluent sewage reactor type UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) to enable the production of biofuel. Cultivation of *Chlorella* sp was performed using the effluents in different proportions (10%, 30%, 50%, 60%, 70%, 90% and 100%) as supplements synthetic medium Bold's Basal Medium (BBM) providing features for development. The cultures coming from centrifugation (50%, 65% and 80%) resulted in the growth of microalgae enabling reuse as a nutritional supplement. The removal of nutrients from wastewater allows the preservation of the water quality of receiving waters effluent. The average removal efficiency obtained by *Chlorella* sp was approximately 38% for total phosphorus and 35% orthophosphate, equivalent to an average of different types of treatment. The microalgae *Chlorella* sp showed maximum efficiency in culture supplemented with 70% of the effluent from the UASB obtaining removed around 64% to 84% of orthophosphate and total phosphorus. Thus, this study allows full utilization of the biomass generated possible to integrate the use of liquid waste with the production of biofuels. The technical, environmental and economic feasibility depends on process improvement allow the spread of its use.

KEYWORDS: Biofuels; Microalgae; *Chlorella* sp; Effluents.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática da taxa de crescimento das algas e concentração de nutrientes.....	23
Figura 2 -	Diagrama simplificado do processo produtivo de biodiesel a partir de microalgas.....	25
Figura 3 -	Fotomicrografia da microalga <i>Chlorella sp.</i>	29
Figura 4 -	Aclimação dos Cultivos.....	30
Figura 5 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 10% de efluente de UASB.....	32
Figura 6 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 30% de efluente de UASB.....	33
Figura 7 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 50% de efluente de UASB.....	34
Figura 8 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 60% de efluente de UASB.....	34
Figura 9 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 70% de efluente de UASB.....	35
Figura 10 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 90% de efluente de UASB.....	36
Figura 11 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com 100% de efluente de UASB.....	36
Figura 12 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 50% do efluente de UASB + 50% do resíduo de cultivo de UASB (60%).....	37
Figura 13 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 50% do efluente de UASB + 50% do resíduo de cultivo de UASB (100%).....	38
Figura 14 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 35% do efluente de UASB + 65% do resíduo de cultivo de UASB (60%).....	39
Figura 15 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 35% do efluente de UASB + 65% do resíduo de cultivo de UASB (100%).....	39
Figura 16 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 20% do efluente de UASB + 80% do resíduo de cultivo de UASB (65%) do resíduo de cultivo de 60%.....	40
Figura 17 -	Curva de crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 20% do efluente de UASB + 80% do resíduo de cultivo de UASB (65%) do resíduo de cultivo de 100%.....	41
Figura 18 -	Comparativo entre os cultivos suplementados com efluente de UASB nas proporções de 10 a 100%.....	41
Figura 19 -	Comparativo entre os cultivos suplementados em 50% do resíduo de cultivo relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB.....	42

Figura 20 -	Comparativo entre os cultivos suplementados em 65% do resíduo de cultivo relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB.....	43
Figura 21 -	Comparativo entre os cultivos suplementados em 80% do resíduo de cultivo de 65% relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB.....	43
Figura 22 -	Comparativo entre todos os cultivos realizados no estudo.....	44
Figura 23 -	Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando o efluente de UASB em BBM, obtido no planejamento experimental.....	45
Figura 24 -	Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada com efluente de UASB.....	46
Figura 25 -	Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando 50% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental.....	47
Figura 26 -	Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 50% do resíduo de cultivo de UASB.....	47
Figura 27 -	Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando 65% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental.....	48
Figura 28 -	Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 65% do resíduo de cultivo de UASB.....	49
Figura 29 -	Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando 80% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental.....	50
Figura 30 -	Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 80% do resíduo de cultivo de 65% do resíduo de cultivo de UASB.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Desafio energético mundial	16
3.2 Biocombustíveis	18
3.3 Microalgas.....	20
3.3.1 Histórico da espécie <i>Chlorella sp</i>	20
3.3.2 Cultivo	21
3.4 Produção de biocombustível a partir de microalgas	23
3.5 Tratamento de esgoto sanitário.....	26
3.5.1 Características de esgotos sanitários.....	26
3.5.2 Tratamento biológico anaeróbio	26
3.5.3 Remoção de nutrientes	27
3.5.4 Uso de microalgas no tratamento de águas residuárias	27
4 METODOLOGIA	29
4.1 <i>Chlorella sp</i>	29
4.2 Meio de cultura.....	29
4.3 Resíduos líquidos suplementados ao meio de cultivo	29
4.4 Separação do resíduo de cultivo	30
4.5 Aclimação dos cultivos	30
4.6 Avaliação do Crescimento da <i>Chlorella sp</i>	30
4.7 Determinação de Fósforo	31
4.8 Planejamento experimental	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 Crescimento da <i>Chlorella sp</i> em cultivo BBM com efluente UASB em diferentes proporções	32
5.2 Crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 50% do resíduo de cultivo de UASB	37
5.3 Crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 65% do resíduo de cultivo de UASB	38
5.4 Crescimento da <i>Chlorella sp</i> em 80% do resíduo de cultivo de UASB	40

5.5 Comparativo entre os cultivos	41
5.6 Planejamento experimental	44
5.6.1 Estudo estatístico do crescimento da Chlorella sp em meio BBM com adição de efluente UASB	44
5.6.2 Estudo estatístico do crescimento da Chlorella sp em 50% do resíduo de cultivo de UASB	46
5.6.3 Estudo estatístico do crescimento da Chlorella sp em 65% do resíduo de cultivo de UASB	48
5.6.4 Estudo estatístico do crescimento da Chlorella sp em 80% do resíduo de cultivo de 65% do resíduo de cultivo de UASB.....	49
5.7 Remoção biológica de fósforo	51
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
7 PERSPECTIVAS.....	56
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

1 INTRODUÇÃO

A busca por melhores condições ambientais abrange grandes discussões, dentre elas, à exigência de novas fontes de produção de combustíveis visto que os projetos atuais para produção de energia são considerados insustentáveis. O desenvolvimento de sistemas que apresentem grande eficiência é imprescindível para suprir a necessidade energética no país.

Os biocombustíveis, por serem energias renováveis, são apresentados como alternativa aos combustíveis fósseis, contribuindo para a estabilização da concentração de CO₂ na atmosfera e permitindo a ciclagem da matéria na natureza. Derivados geralmente de produtos vegetais, podem ser produzidos utilizando matérias-primas como cana-de-açúcar, mamona, milho, soja, além de outros resíduos agrícolas e excrementos de animais. O óleo proveniente do processamento da matéria pode ser misturado, em qualquer concentração, ao diesel derivado do petróleo ou utilizado puro (BRASIL, 2014).

Devido ao mercado de alimentos, o biodiesel derivado de oleaginosas não supre a demanda existente por combustível para motores a diesel no país. A necessidade de grandes áreas para cultivo torna a produção em larga escala uma realidade distante e contribui para destruição da flora natural, esgotamento da capacidade dos solos e erradicação de espécies.

Neste sentido, as microalgas são uma novidade bem-vinda para produção de biocombustíveis. Elas apresentam um grande teor energético podendo substituir combustíveis fósseis como o óleo diesel e absorver uma quantidade enorme de durante seu processo de crescimento. Outra vantagem, é que sua capacidade de produzir óleo é bastante superior à de diversas plantas oleaginosas como o amendoim, palma e mamona (FRANCO, 2011).

As algas também apresentam potencial para produção de outras fontes energéticas como metano, etanol e hidrogênio, assim como, de biomassa para gaseificação e combustão. A energia proveniente do teor lipídico elevado dessas algas (20% - 50%) é obtida naturalmente convertendo o dióxido de carbono atmosférico por meio da fotossíntese (CHIST, 2007).

A produção de biomassa algal em larga escala começou a ser estudada no século XX por meio de tecnologias de cultivo realizadas em tanques abertos e em fotobiorreatores fechados (BERTOLDI, 2008). Nos anos 60, sua produção comercial

se voltou principalmente para o uso em suplementos dietéticos e aquicultura, assim como, para pesquisas relacionadas à utilização das microalgas para reciclagem de águas residuais (BENEMANN, 1990).

Com base nessa perspectiva, muitos países vêm desenvolvendo programas de pesquisa para propiciar produção de microalgas em larga escala buscando elaborar processos eficientes para extração de óleo aproveitando integralmente a biomassa gerada, e identificar as espécies de maior produtividade e fácil cultivo. Algumas espécies selvagens com elevado potencial já foram caracterizadas e seus genomas foram sequenciados para obtenção de estirpes geneticamente modificadas (MAYFIELD, 2008).

A *Chlorella* é um gênero de algas verdes unicelulares considerada uma das formas de vida mais antiga da Terra. Existem, pelo menos, dez espécies do gênero no planeta. Sua estrutura simples e a grande concentração e variedade de nutrientes despertou o interesse de diversos cientistas. Hoje, muitos estudos consideram a *Chlorella* como sendo um dos mais importantes complementos nutricionais, apresentando grande diferencial pela sua capacidade de fixar numerosas substâncias tóxicas e pelo seu elevado crescimento.

O meio de crescimento das microalgas deve conter elementos como nitrogênio, fósforo, potássio, ferro, além de elementos em pequena concentração, tais como boro e molibdênio. Os cultivos autotróficos são os mais utilizados para produção em larga escala. Segundo Molina-Grima (2003) os meios de cultivo correspondem a 30% do custo de produção. Combinando o sequestro de com a utilização de águas residuárias como meio de cultivo alternativo, o processo pode se tornar mais econômico.

Esse estudo teve o intuito de alcançar produtividade em biomassa algal, otimizando o cultivo da microalga *Chlorella sp* com o uso de águas residuárias para viabilizar a produção de biocombustível, dando assim um destino adequado aos rejeitos, bem como, fornecendo uma alternativa eficaz aos derivados do petróleo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Promover a produção de biomassa da microalga *Chlorella sp* em meios de cultura suplementados com efluentes de tratamento anaeróbico de esgoto sanitário do reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) para viabilizar a produção de biocombustível.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adaptar em meio de cultura tradicional cepas da microalga *Chlorella sp* ao cultivo mixotrófico por meio do uso de efluentes de tratamento anaeróbico de esgoto sanitário do reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) identificando as condições de maior desenvolvimento celular;
- Caracterizar o perfil de desenvolvimento de biomassa da microalga *Chlorella sp* obtida pelo cultivo em efluente de tratamento anaeróbico de esgoto por meio de curvas de crescimento celular;
- Avaliar o potencial do efluente do reator tipo UASB como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) para otimizar a produção da microalga em estudo;
- Avaliar a redução do teor de fósforo total e ortofosfato após o cultivo da microalga *Chlorella sp* em efluente do reator tipo UASB;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Desafio energético mundial

A crise energética que ameaça o mundo e de modo particular o Brasil, decorre do modelo de desenvolvimento adotado pelos países centrais (desenvolvidos) e recomendado por eles aos chamados periféricos (subdesenvolvidos) que se baseia na exploração excessiva dos recursos naturais sem que se produzam esforços na mesma proporção e intensidade para reduzir impactos negativos dessa ação sobre o meio ambiente, natural e construído.

A aposta na industrialização como solução para todos os problemas de natureza econômica (baixo crescimento) e social (desemprego, por exemplo) e numa matriz energética, para manter esse setor em pleno funcionamento, dependente de combustíveis fósseis e de energia hidráulica, agravaram, nos últimos 50 anos, o processo de degradação da natureza e não proporcionaram a redução das desigualdades socioespaciais (TOLMASQUIM, 2000).

A evolução da relação entre consumo material e crescimento econômico permite a compreensão do desfecho da crise energética corrente. A queima de combustíveis fósseis como o petróleo, carvão e gás natural representa, atualmente, cerca de 80% da geração de energia primária global. No Brasil, a única fonte renovável de energia que não emite é a energia nuclear, que equivale a apenas 2% da potência elétrica produzida no país.

Apesar do salto tecnológico em busca da produção de fontes limpas de energia, o mundo continua dependente de fontes energéticas que intensificam a poluição atmosférica. Nesse sentido, mudar o padrão de consumo e a matriz energética representa o maior desafio do cenário mundial atual, de modo que países avançados desfrutem das melhores condições para adoção de alternativas mais promissoras. Fontes consideradas limpas, vêm sendo questionadas por cientistas e ambientalistas. A energia nuclear, devido à possibilidade de contaminação por lixo atômico e proliferação armamentista mundial, e a energia hidrelétrica, pelos danos causados ao meio ambiente com a ocupação de grandes áreas para a instalação de usinas.

De acordo com Menezes e Cordeiro (2013), as principais fontes de energias do Brasil estão distribuídas da seguinte forma: energia hidráulica (74,3%), energia térmica (gás natural e carvão mineral – 7%), biomassa (bagaço de cana de açúcar –

5,1%), petróleo (2,8%), energia nuclear (2,7%), gás industrial (1,5%) e eólica (0,4%), sendo o restante (próximo a 6,2%) importado. Os dados mostram que a matriz energética do país está desbalanceada e deixam evidente a dependência da energia hidráulica.

A energia hidráulica, por sua vez, apresenta um forte componente aleatório: a ocorrência de chuvas nas bacias que abastecem os reservatórios. Nas 10 maiores usinas hidrelétricas em operação no Brasil, com exceção de Itaipu e Ilha Solteira, todas as demais apresentam níveis de reservatório muito abaixo da média de segurança (MENEZES e CORDEIRO, 2013).

Apesar de ser um dos países mais ricos do mundo em recursos hídricos, com 12% de toda reserva mundial, as demandas atuais de crescimento e desenvolvimento alertam para a necessidade urgente de diversificação da matriz energética. A contribuição do carvão mineral (1,3%), por exemplo, é baixa, pois o país dispõe de poucas reservas e déficit na qualidade.

Menezes e Cordeiro (2013) defendem que a diversificação da matriz energética deve ser baseada em modelos estatísticos que levam em conta as incertezas de geração inerentes às diversas fontes de energia e ao risco da eventual escassez de algumas delas de modo compatível com as reservas disponíveis evitando colapsos em casos de possíveis problemas nas fontes de abastecimento energético.

No contexto da crise energética atual retoma-se, com mais ênfase uma discussão iniciada na década de 1970, auge da crise do petróleo: buscar fontes alternativas de combustíveis, considerando o esgotamento das fontes de origens fósseis. Um levantamento citado pelo IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) mostra que em 2005 países como Alemanha, China, Estados Unidos, Japão e Índia investiram cerca de US\$ 38 bilhões em energias renováveis.

Desenvolver outros tipos de energia renovável, como eólica, solar, geotérmica e de biomassa tem se tornado cada vez mais relevante. Segundo o Conselho Mundial de Energia (WEC), Alemanha, Espanha e Estados Unidos já têm capacidades instaladas de energia eólica comparáveis à usina de Itaipu (12,6 GW) alcançando, respectivamente, 18,4 GW, 10 GW e 9,1 GW. China e Índia podem ser citados atualmente como os países que mais desenvolvem esse tipo de tecnologia energética e pretendem ampliar sua capacidade para 30GW até 2030. Pelos cálculos do Conselho Mundial de Energia, a energia solar deve chegar a uma

capacidade instalada de 5GW até 2010 (BRASIL, 2008).

O Brasil também é visto como um país com grandes vantagens, sendo um dos pioneiros nessa área com o Proálcool (produção de etanol a partir da cana de açúcar) e, mais recentemente, com o programa biodiesel (produção de óleo a partir de vegetais, como a mamona). Há ainda em curso, experiências com a produção de energia a partir de biomassa, como o bagaço da cana de açúcar. O que se discute, de um lado, é a ampliação, a curto prazo, do uso dessas alternativas em grande escala, para atender demandas do setor produtivo e, de outro, se de fato a matriz hidráulica, com mais investimentos em tecnologia, não poderia continuar movendo o Brasil.

A necessidade de diversificação, deve levar em consideração quatro premissas básicas: assegurar crescimentos com desenvolvimento; reduzir os níveis de poluição decorrentes do uso de fontes tradicionais (hidráulica e petróleo); ampliar a quantidade, qualidade e a eficiência e eficácia das matrizes limpas (eólica e biocombustíveis); e um programa de revitalização das fontes hídricas ameaçadas em todo o país.

3.2 Biocombustíveis

Nos últimos anos, devido às instabilidades sociais e políticas nas regiões produtoras de petróleo, houve um sensível aumento de preço desse insumo, principalmente, pela convicção de que o pico de produção será atingido nos próximos anos. Diante desse quadro, os biocombustíveis surgiram com uma grande responsabilidade: substituir parcialmente o petróleo alongando sua vida útil, bem como, reduzir significativamente a emissão de gases do efeito estufa geralmente provenientes da queima do petróleo.

Os biocombustíveis inseridos no mercado atual são o etanol e o biodiesel, sendo produzidos, respectivamente, cerca de 50 bilhões de litros e 5 bilhões de litros por ano. O etanol ganhou dimensões palpáveis com o advento do Proálcool em 1975, permitindo que o setor investisse em produção, reduzindo os custos de importação de petróleo que representava cerca de 80% do consumo no país (LEITE e LEAL, 2007). Em menos de dez anos, a produtividade de etanol ultrapassou a meta do programa, mas devido à volatilidade de preço do petróleo, o etanol perdeu a competitividade perante a gasolina, desregulamentando o mercado do produto e fazendo prevalecer a livre competição sem estabelecimento de cotas e preços.

O país é o segundo maior produtor de etanol no mundo com 360 usinas e mais de 120 projetos em andamento, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Os custos de produção reduzidos e o amadurecimento do processo de produção contribuíram para alavancar a competitividade com a gasolina. O etanol hoje representa cerca de 40% dos combustíveis para motores etanol utilizando 50% da cana moída no Brasil para sua produção (LEITE e LEAL, 2007).

No início do programa Proálcool, também foram realizados diversos estudos para o desenvolvimento de possíveis substitutos do diesel visando uma redução mais significativa do consumo de petróleo. O interesse pelo biodiesel tornou-se mais evidente com o aumento de produção e consumo na Europa, quadro que favoreceu o fortalecimento da agricultura familiar no país, incluindo pequenos produtores.

A Lei N° 11.097/2005 instituiu o Programa Nacional de Produção de Biodiesel, estabelecendo a obrigatoriedade do uso de 2% de biodiesel misturado ao petrodiesel a partir de 2008 e de 5% a partir de 2013. Dependendo da capacidade de produção instalada esta última data poderá ser antecipada (LEITE e LEAL, 2007).

O governo tem propiciado o avanço da produção de óleos vegetais e biodiesel no semiárido Nordeste com a cultura de mamona. A unidade da Brasil Ecodiesel no Piauí pode produzir cerca de 7 milhões de litros por ano utilizando o processo de transesterificação. Apesar de a mamona ter surgido como grande solução para inclusão social via agricultura familiar, o manejo e as técnicas de cultivo ainda não se encontram suficientemente desenvolvidos, precisando de amadurecimento do processo para seu desenvolvimento como opção comercialmente viável para produção de biodiesel (LEITE e LEAL, 2007).

Desse modo, fica evidente a motivação para o uso de biocombustíveis para redução da emissão de gases de efeito estufa, mas é necessária a redução das áreas de cultivo, de modo que essa tecnologia possa competir com outras formas de energia renováveis, bem como, com tecnologias de sequestro de carbono.

A produção mundial hoje, se baseia nas tecnologias de primeira geração (derivados de açúcares, amidos, óleos vegetais ou gordura animal). O desenvolvimento das tecnologias de segunda e terceira geração pode ter um futuro bastante promissor já que sua produção se dá nas mais variadas condições de solo e clima utilizando fontes de matéria-prima como os materiais lignocelulósicos e a biotecnologia microalgal.

3.3 Microalgas

As microalgas pertencem a um grupo muito heterogêneo de organismos. São predominantemente aquáticas, unicelulares com estrutura e organização simples, constituindo a base da cadeia alimentar. Apresentam crescimento rápido podendo formar colônias. Sua coloração varia de acordo com o mecanismo fotoautotrófico e pigmentação presentes. Podem prosperar em águas hiposalinas e hipersalinas, em uma faixa larga de temperatura, suportando diferentes intensidades luminosas e diferentes valores de pH.

São consideradas “matéria-prima” do futuro devido a sua multiplicidade de aplicações em áreas altamente relevantes, tais como: alimentação humana e animal, biocombustíveis, biorremediação ambiental, dermatologia/cosmética, medicina, entre outras. A caracterização e seleção das espécies mais promissoras para cada tipo de aplicação são fatores que contribuem para o sucesso da utilização de biotecnologia algal.

Segundo Chisti (2007) as microalgas são responsáveis pela produção primária de pelo menos 60% de oxigênio da Terra. Ao realizar fotossíntese produzem lipídios de maneira mais eficiente que as plantas terrestres, transformando a energia solar em matéria orgânica (RAVEN et al., 2005). O número exato de espécies microalgais ainda é desconhecido, no entanto, pesquisas indicam que podem existir cerca de 200.000 até alguns milhões.

3.3.1 Histórico da espécie *Chlorella sp*

A espécie *Chlorella sp* pertence ao reino *Plantae*, divisão *Chlorophyta*, classe *Trebouxiophyceae*, ordem *Chlorellales* e família *Chlorellaceae*. Apresenta forma de vida unicelular ou colonial, podendo acumular pigmentos como clorofila a e b e β (carotenos e xantofilas). É uma espécie de água doce que tem como principal fonte de reserva o amido, podendo também armazenar óleo sob certas condições (COLAÇO, 2012).

Segundo Vonshak (1997) o metabolismo principal da espécie *Chlorella sp* é a fotossíntese, utilizando, assim como as plantas superiores, a luz solar como fonte de energia. Apresentando mais de 2% de clorofila em sua composição, a microalga também possui proteínas (53%), carboidratos (23%), lipídios (9%) e minerais (5%) (HENRIKSON, 1994).

A *Chlorella sp* é considerada um elemento notável no que diz respeito à prevenção e tratamento de doenças como a anemia, devido à elevada concentração de vitaminas do complexo B, principalmente B12, em sua composição, auxiliando, desse modo, na regeneração e formação de células sanguíneas.

Seu alto valor nutricional permite a ampla absorção de seus nutrientes pelo metabolismo. Esse processo se dá pela desintegração das células (protegidas por uma parede celular) durante o processo de secagem (HENRIKSON, 1994). Variações de valores nutricionais podem ocorrer dependendo das condições estabelecidas para seu cultivo entre outros fatores.

Segundo Phukan et al. (2011) a *Chlorella sp* pode ser considerada uma espécie de grande importância, dotada de valor econômico, não só por sua aplicação no mercado de alimentos, promovendo a saúde e eliminação de toxinas do organismo, mas também como fonte de energia renovável ao gerar bioenergia.

3.3.2 Cultivo

Os primeiros registros de cultivo de algas pelo homem foram encontrados na China (2700 a.C). Seu potencial foi descoberto ao longo dos anos e começaram a ser utilizadas em diversas funções. O cultivo de algas é tradicional em países asiáticos sendo voltado principalmente para alimentação. O cultivo de microalgas apresenta elevada produtividade em biomassa seca. Segundo Spolaore et al. (2006) a indústria de biomassa de microalgas tem demonstrado o potencial desse seguimento biotecnológico produzindo atualmente mais de 5000 t.ano⁻¹ de massa seca, o que equivale a uma renda de US\$ 1,25 bilhões.

O isolamento e caracterização das espécies são elementos indispensáveis para garantir a eficiência do cultivo maciço de microalgas, aprimorando as ferramentas genéticas para o aumento da produção de lipídios por litro de cultivo. O pH, intensidade de luz, temperatura e nutrientes são fatores que influenciam diretamente a produção.

Existem sistemas característicos de cultivo de microalgas que propiciam a formação de energia química. O sistema de cultivo autotrófico é o mais utilizado no cultivo de microalgas, principalmente quando a produção é em larga escala. Nesse sistema, as microalgas produzem biomassa fixando o carbono por meio da fotossíntese. A incidência eficiente de luz sobre o cultivo não garante o crescimento

acelerado das microalgas e pode gerar um processo chamado fotoinibição levando a uma menor produção celular.

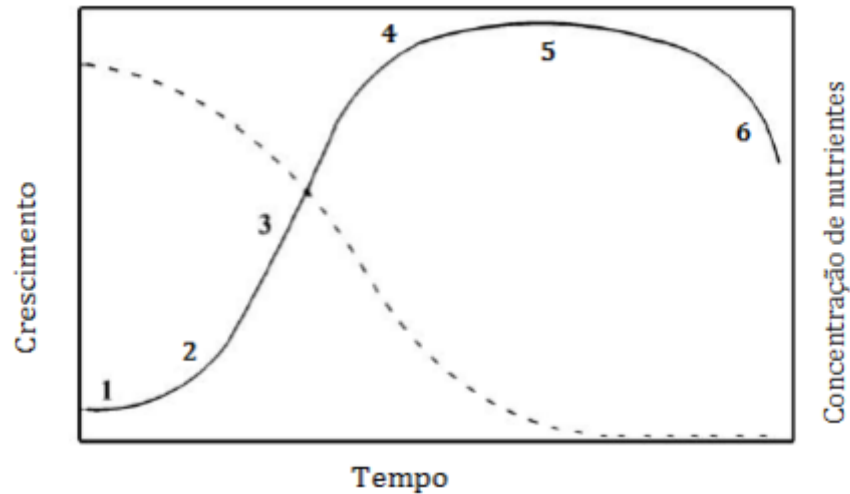
O sistema de cultivo heterotrófico, por sua vez, apresenta maior vantagem devido à independência de luz e a possibilidade de melhor controle de cultivo, reduzindo custos e aumentando a densidade celular. No entanto, Bashan et al. (2011) elencam algumas limitações como o aumento dos custos com adição de substrato orgânico; maior probabilidade de contaminação e competição com outros microrganismos; inibição do crescimento com excesso de substrato orgânico; e número limitado de espécies que se desenvolvem no sistema.

A fonte de carbono é um dos principais componentes na produção de biomassa microalgal. Nesse sentido, o sistema de cultivo mixotrófico permite a disponibilização de carbono por meio de compostos orgânicos e por meio do atmosférico, garantindo maior rendimento de biomassa no qual atuam o metabolismo heterotrófico e autotrófico (RADMANN et al., 2009).

As microalgas também podem ser cultivadas em fotobioreatores ou em lagoas abertas e fechadas. Os fotobioreatores consistem em tubos arranjados transparentes, acoplados a uma bomba de circulação possibilitando a não contaminação por outros microrganismos, bem como, o controle e manipulação dos parâmetros físico-químicos do meio de cultivo.

O crescimento das microalgas resulta da interação entre fatores químicos, físicos e biológicos. Normalmente, regiões com clima úmido ou tropical são mais favoráveis ao seu desenvolvimento. A Figura 1 representa a taxa de crescimento das algas e concentração de nutrientes.

Figura 1 – Representação esquemática da taxa de crescimento das algas e concentração de nutrientes



Fonte: MATA et al. , 2010.

Na construção da curva de crescimento, podem ser identificadas seis fases principais:

- Fase de adaptação ou lag (1) - caracterizada por intensa atividade celular, a taxa específica de crescimento é nula;
- Fase de aceleração (2) - taxa de crescimento específico entre nula e máxima;
- Fase de crescimento exponencial (3) - taxa específica de crescimento máxima;
- Fase de desaceleração (4) - caracterizada pela diminuição da taxa de crescimento;
- Fase estacionária (5) - concentração celular máxima e redução contínua da taxa de crescimento específico (até se anular);
- Fase de declínio (6) - caracterizada pela diminuição de células viáveis possibilitando a lise celular;

A curva demonstra o potencial de crescimento das microalgas, sendo consideradas possíveis fontes de matéria-prima para produção de biodiesel devido a sua alta produtividade por litro e fácil adaptação às diferentes formas de cultivo.

3.4 Produção de biocombustível a partir de microalgas

O Instituto de Tecnologia de Massachusetts fez a primeira menção, em 1950, ao uso de algas para produção de biocombustíveis. Desde então, surgiram

programas como o Algae Species Program (ASP) que passou a viabilizar essa tecnologia, sendo até hoje considerado um grande centro de referência (BENEMANN, 2008).

Para a produção de biodiesel a partir de microalgas é primordial o desenvolvimento de biomassa com elevadas produtividades e que apresente percentuais de lipídios bastante significativos. Nesse sentido, grandes avanços têm sido obtidos por meio de cultivos em fotobioreatores possibilitando o aumento da produtividade de biomassa microalgal (VARFOLOMEEV e WASSERMAN, 2011).

As microalgas possuem um teor lipídico de biomassa que varia de 1 a 70%, podendo chegar a atingir até 90% do peso seco (CHIST, 2007; HUANG et al., 2010; MATA et al., 2010). Devem-se levar em consideração as características dos ácidos graxos que compõem os lipídios, já que o processo de obtenção do biodiesel depende fortemente deles. Propriedades como a qualidade da ignição, propriedades de fluxo a frio e estabilidade oxidativa são mais influenciadas.

O biodiesel obtido a partir das microalgas possui características semelhantes aos produzidos por meio de biomassas tradicionais como a soja, no entanto, os dados de laboratório sobre essa produção ainda são bastante limitados (TEIXEIRA e MORALES, 2007). É necessário a presença de luz, CO_2 , água e sais inorgânicos para garantir a eficiência da produção.

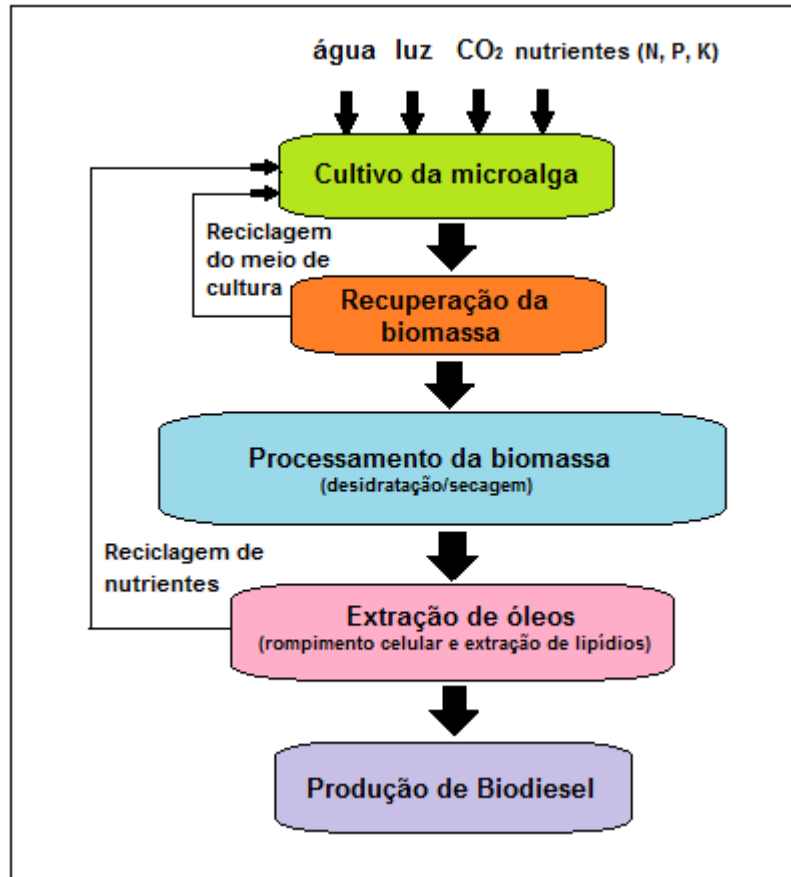
A produção de biodiesel começa com a secagem das algas cultivadas, passando posteriormente pelos processos de trituração, hidrólise, fermentação e destilação (DEMIRBAS, 2007). O amido das microalgas pode ser extraído com auxílio de uma enzima ou dispositivo mecânico. A degradação das células é o ponto chave para o início da fermentação.

A Figura 2 representa o diagrama simplificado do processo produtivo de biodiesel a partir de microalgas. Dentre as principais formas de produção pode-se citar:

- Pirólise - caracteriza-se pela destruição da biomassa seca em temperaturas elevadas e na ausência de oxigênio, levando a formação de benzeno, hidrocarbonetos aromáticos;
- Liquefação termomecânica - caracteriza-se pela conversão de óleos utilizando a biomassa úmida a 300°C e 10 MPa, com o carbonato de sódio como catalisador;

- Gaseificação e combustão direta - caracteriza-se pela oxidação na presença de oxigênio e água a elevadas temperaturas (800-1000°C).

Figura 2 – Diagrama simplificado do processo produtivo de biodiesel a partir de microalgas



Fonte: AZEREDO, 2012.

As microalgas, como já visto, são potencialmente adequadas para a produção de biocombustíveis e comparado ao cultivo de plantas apresenta vantagens como menor custo de colheita e transporte, menor consumo de água, são excelentes fixadoras de CO_2 , podem se desenvolver em condições não adequadas para a produção de culturas convencionais, apresentam maior eficiência fotossintética que os vegetais superiores e podem ser cultivadas em meio salino simples.

A viabilidade técnica, ambiental e econômica da obtenção de biodiesel a partir de microalgas só será possível reduzindo custos e aumentando a produtividade. A integração do sistema de cultivo de microalgas com o saneamento ambiental e com

os processos de obtenção de biocombustíveis para aproveitamento de toda biomassa pode aprimorar o processo e difundir o uso dessa biomassa.

3.5 Tratamento de esgoto sanitário

3.5.1 Características de esgotos sanitários

Pode-se considerar o esgoto sanitário como sendo todo despejo oriundo das diversas modalidades do uso da água. Geralmente provém de qualquer edificação que disponha de instalações de banheiros, lavanderias e cozinhas, principalmente as residências, instituições e estabelecimentos comerciais (VON SPERLING, 2001).

Os esgotos sanitários são constituídos basicamente por água, cerca de 98% de sua composição, além de outros compostos como nitrogênio e fósforo, sólidos suspensos, grosseiros e dissolvidos, organismos patogênicos e alguns compostos orgânicos como óleos e graxas, carboidratos e proteínas (AISSE et al., 2006).

3.5.2 Tratamento biológico anaeróbio

Antes de ser lançado em corpos de água é necessário que o esgoto seja tratado de forma adequada. A busca por melhores condições ambientais tem exigido das unidades produtoras de águas residuárias a adoção de políticas ambientais que prevejam, entre outros fatores, a instalação de sistemas de tratamento, sejam eles físicos, químicos ou biológicos.

O tratamento biológico de águas residuárias vem sendo bastante utilizado e consiste na remoção de nutrientes, sólidos em suspensão, material carbonáceo e organismos patogênicos, promovendo a estabilização do esgoto para que não haja o consumo de oxigênio presente nos corpos d'água receptores, podendo ser dividido em duas modalidades: os tratamentos aeróbios e os tratamentos anaeróbios (MUELLER, 1995).

Os reatores anaeróbios podem ser considerados a opção mais utilizada como alternativa de tratamento de esgotos sanitários, principalmente por não exigir grande área para seu funcionamento (AISSE et al., 2006).

Os sistemas anaeróbios geralmente são constituídos por um reator anaeróbio em um tanque fechado que promove a remoção da matéria orgânica, desprendendo o metano para a atmosfera em função da presença de microrganismos. Esse processo é realizado em quatro etapas (hidrólise, acidogênese, acetogênese e

metanogênese), sendo mais indicado para efluentes com uma alta concentração de substâncias orgânicas.

Entre os sistemas de tratamento anaeróbio encontram-se os reatores de alta taxa, como o UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) também chamado de Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (RAFA), que pode receber maiores quantidades de matéria orgânica por unidade volumétrica (AISSE et al., 2006).

No reator UASB o esgoto passa em fluxo ascendente por uma manta de lodo de elevada atividade microbiana. A ação dos microrganismos sobre os componentes dos esgotos torna-se mais fácil devido a presença do lodo em suspensão (CHERNICHARO, 1997).

Segundo Hamoda e Berg (1984) o esgoto é biologicamente degradado na manta de lodo do reator. O compartimento de decantação forma uma zona tranquila que facilita o processo de retorno das partículas suspensas mais pesadas para o interior do reator eliminando as partículas mais leves junto com o efluente final. O gás proveniente da mistura é desprendido pelo separador de fases.

Apesar das vantagens do processo, principalmente no que diz respeito ao baixo custo de operação e manutenção, requisitos de área e simplicidade operacional, o sistema ainda apresenta algumas desvantagens como sensibilidade a mudanças nas condições ambientais, baixa capacidade em tolerar cargas tóxicas, elevado intervalo de tempo para a partida do sistema e necessidade de uma etapa de pós-tratamento (CHERNICHARO, 1997; CAMPOS, 1999).

3.5.3 Remoção de nutrientes

A remoção de nutrientes das águas residuárias permite a preservação da qualidade das águas dos corpos receptores de efluentes. A presença de nitrogênio e fósforo combinados com dióxido de carbono leva a uma crescente deterioração dos recursos hídricos podendo acelerar o processo de eutrofização dessas águas. As águas subterrâneas também podem ser atingidas por meio da infiltração de efluentes sem tratamento adequado no solo, prejudicando a saúde se utilizada para abastecimento público (MOTA; VON SPERLING, 2009).

3.5.4 Uso de microalgas no tratamento de águas residuárias

A utilização de microalgas no tratamento de águas residuárias apresenta grande vantagem devido ao elevado potencial para depuração das águas, podendo

absorver diversos tipos de contaminantes e absorver nutrientes solúveis em cargas maiores que as necessárias para seu crescimento, garantindo, desse modo, a não acumulação de biomassa no processo e resolvendo o problema da eutrofização (MULBRY et al., 2008; MUNOZ et al., 2008).

A base para esse tipo de tratamento é formada por uma relação de simbiose entre bactérias e microalgas. As microalgas realizam a fotossíntese liberando o oxigênio necessário para a biodegradação dos compostos orgânicos pelas bactérias. O carbono orgânico então é transformado e assimilado pelas microalgas.

A disponibilidade de nutrientes no meio é o fator que garante o crescimento das populações de microalgas. Estes microrganismos conseguem converter o fósforo acumulado em substâncias reservas que podem ser transformadas em produtos de valor comercial. O fósforo pode ser assimilado pelos seres vivos em sua forma suspensa ou na forma de fosfato (PO_4^{3-}). Geralmente é encontrado dissolvido em água e pode ser considerado um nutriente limitante para diversos ecossistemas.

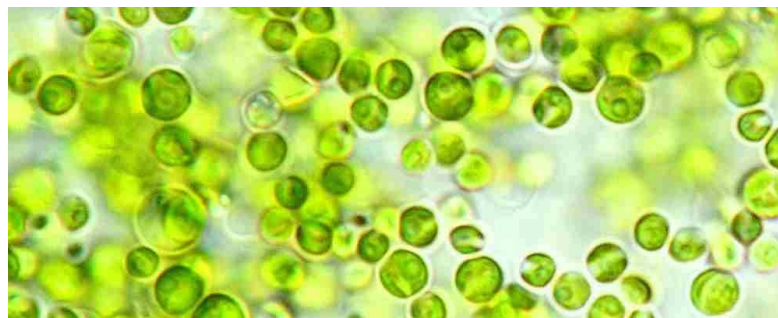
A remoção de fósforo geralmente é realizada por precipitação química utilizando alumínio ou ferro e apresenta algumas desvantagens, dentre elas, custo elevado e excesso de produção de lamas com elevadas concentrações de metais. O tratamento biológico apesar de economicamente dispendioso permite a absorção pelos microrganismos de até 20% de seu próprio peso em fosfatos podendo ser utilizado posteriormente como adubo (AZEVEDO, 2003).

4 METODOLOGIA

4.1 *Chlorella sp*

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Saneamento do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) utilizando cepas da microalga de espécie *Chlorella sp* fornecidas pelo Laboratório de Biologia Marinha da Universidade Federal Fluminense e pelo Laboratório de Biotecnologia Alimentar da Universidade Federal de Santa Catarina. A Figura 3 representa a fotomicrografia das cepas da microalga *Chlorella sp*.

Figura 3 – Fotomicrografia da microalga *Chlorella sp*



Fonte: NOAH HEALTH, 2014.

Disponível em: <http://www.noahhealth.org/>

4.2 Meio de cultura

Para o cultivo da *Chlorella sp* utilizou-se o meio sintético *Bold's Basal Medium* (BBM) suplementado com extrato de levedura. Durante o crescimento exponencial da *Chlorella sp* foram desenvolvidas culturas em meio líquido por meio de repiques de culturas algais mantidas em meio sólido.

4.3 Resíduos líquidos suplementados ao meio de cultivo

O estudo foi realizado utilizando um resíduo líquido de grande impacto ambiental – efluente de tratamento anaeróbico de esgoto sanitário proveniente do reator tipo UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*). Para melhor avaliação, devido as grandes quantidades utilizadas, o efluente foi filtrado, retendo sólidos suspensos, e armazenado sob refrigeração.

Com o intuito de verificar a concentração de melhor adaptação da *Chlorella sp*, os efluentes provenientes do reator tipo UASB foram adicionados em diferentes

proporções ao meio de cultura (10%, 30%, 50%, 60%, 70%, 90% e 100%), bem como, utilizados sem adição de BBM.

4.4 Separação do resíduo de cultivo

A separação do resíduo de cultivo foi realizada pelo método da centrifugação utilizando uma centrífuga de alta rotação de marca TARFEC - Mod - CP0603 mantendo, por um período de 8 minutos, uma rotação de 3000 RPM.

O resíduo de cultivo, então separado da biomassa, foi armazenado sob refrigeração para posterior estudo de composição química e reutilização.

4.5 Aclimação dos cultivos

A aclimação dos cultivos foi realizada de modo a estabelecer um ambiente propício para a otimização do crescimento da *Chlorella sp.* Cada unidade experimental (fotobioreator) consistiu de uma cultura microalgal desenvolvida em frasco de vidro do tipo Erlenmeyer. Os fotobioreatores foram mantidos a temperatura de 26°C sob agitação, devido à injeção de ar comprimido (aeração), e expostos por um período de 12 horas à iluminação de lâmpadas fluorescentes de 40W. A Figura 4 mostra as condições de aclimação adotadas para o desenvolvimento das microalgas.

Figura 4 - Aclimação dos cultivos



4.6 Avaliação do Crescimento da *Chlorella sp*

Com o auxílio da microscopia óptica foi possível determinar o crescimento das microalgas avaliando-se a densidade celular em função do tempo de cultivo em cada

uma das unidades experimentais. As amostras foram retiradas a cada 24 horas após o início dos cultivos para contagem de células em câmara de Neubauer, determinando, desse modo, a densidade celular expressa em número de células por mililitro de cultivo ().

A contagem de células foi realizada em triplicata. O número de células corresponde à média das três contagens. O tempo de cultivo foi expresso pela quantidade de dias decorridos desde o início da inoculação (período de adaptação – fase lag) até o alcance máximo da densidade celular (fase estacionária). Os gráficos de dispersão foram plotados para representar as curvas de crescimento da *Chlorella sp*, onde o eixo das abscissas corresponde ao o tempo de cultivo em dias e o eixo das ordenadas ao número de ().

4.7 Determinação de Fósforo

Essa determinação foi realizada seguindo o método descrito no Standart Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA,1998) com o intuito de verificar o potencial biorremediador da microalga *Chlorella sp* nos cultivos realizados utilizando efluentes provenientes do reator tipo UASB. As amostras foram coletadas e armazenadas sob refrigeração para posterior análise.

4.8 Planejamento experimental

Através do pacote computacional STATISTC 12 foi realizado um planejamento fatorial 2^2 , tendo o tempo (expresso em dias) e a concentração do meio de cultura (expressa em porcentagem) como variáveis independentes, e como variável dependente o número de células cujos níveis (-1 e +1) corresponderam ao 1º dia de cultivo e ao início da fase lag. Os níveis foram definidos baseados em estudos preliminares realizados em cultivos prévios.

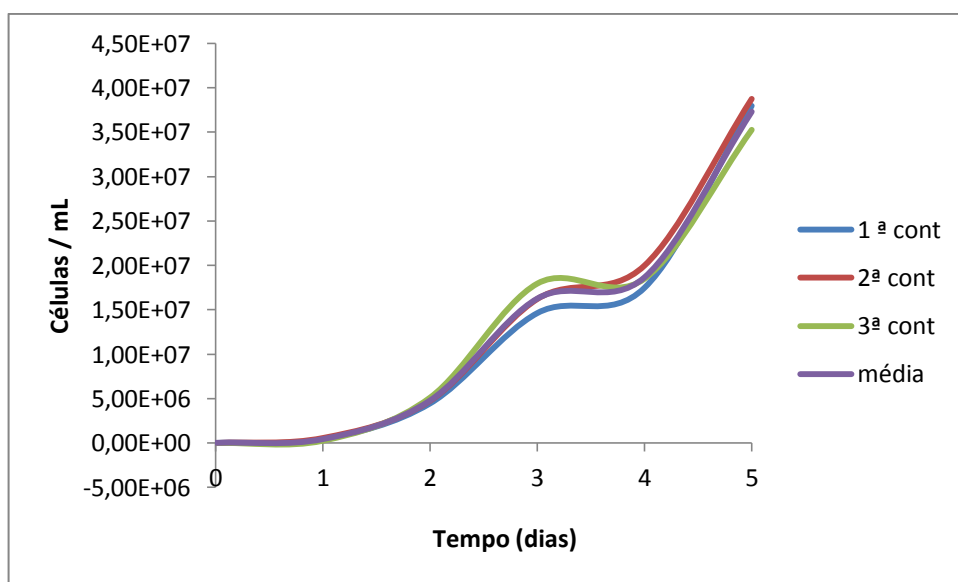
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com efluente UASB em diferentes proporções

Este estudo teve como base o aproveitamento de resíduos líquidos, de alto impacto ambiental, para o desenvolvimento da microalga *Chlorella sp* em fotobioreatores visando à obtenção de biocombustível. Com o intuito de estudar o crescimento celular em função das diferentes concentrações e formulações do meio de cultura utilizado, foram plotadas curvas de crescimento para cada experimento, analisando a densidade celular obtida pela contagem diária de células.

A Figura 5 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB na porcentagem de 10% como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) para otimizar a produção da microalga em estudo. O cultivo foi realizado utilizando Erlenmeyer como fotobioreator para o crescimento da microalga de espécie *Chlorella sp*.

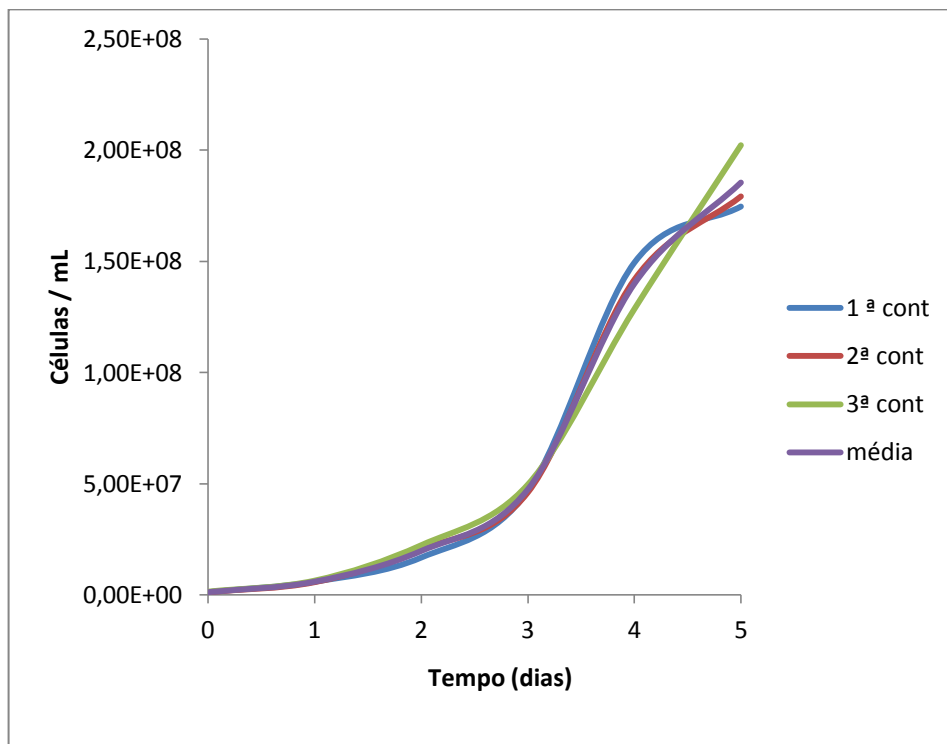
Figura 5 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 10% de efluente de UASB



Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Chlorella sp*, pode-se verificar que o número máximo de células alcançado foi de $3,73 \times 10^7$, O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $2,17 \times 10^6$. Houve significativo incremento de células, apresentando elevada taxa de crescimento celular.

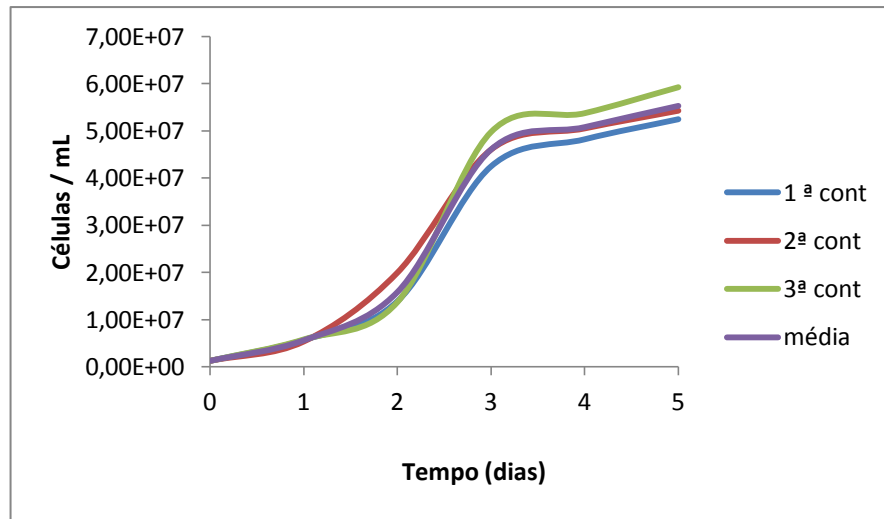
A Figura 6 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) na porcentagem de 30%. Pode-se observar que ao término do experimento o número máximo de células alcançado foi de $1,85 \times 10^8$. A maior concentração de efluente UASB permitiu o desenvolvimento das células de modo mais eficaz o que possibilita maior geração de teor de lipídios.

Figura 6 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 30% de efluente de UASB



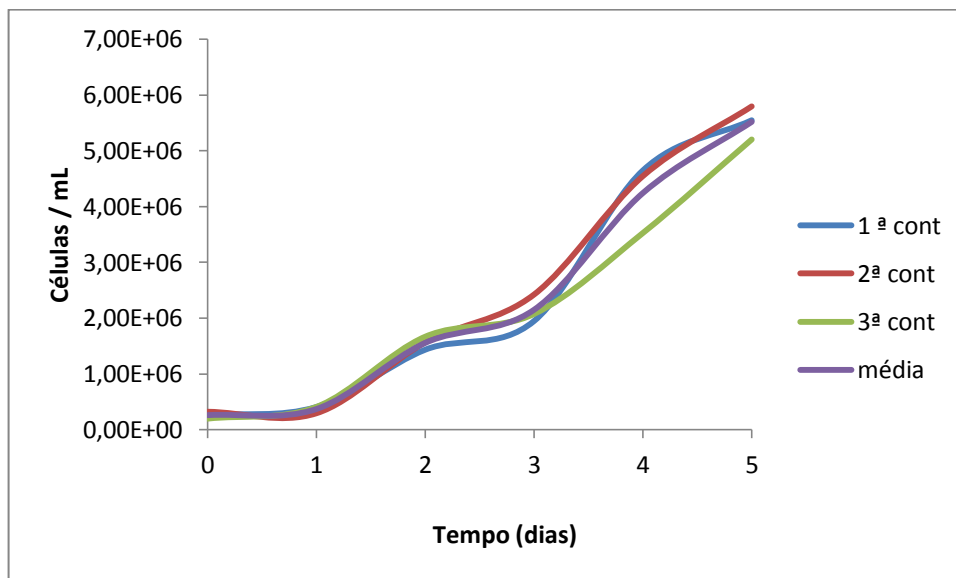
A Figura 7 representa o estudo com adição de 50% de efluente UASB ao cultivo com BBM. O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $1,26 \times 10^8$ finalizando com número de células de $5,53 \times 10^8$. Não houve aumento de crescimento celular com relação ao estudo anterior, apresentado uma rápida fase lag sem grandes alterações na densidade celular.

Figura 7 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 50% de efluente de UASB



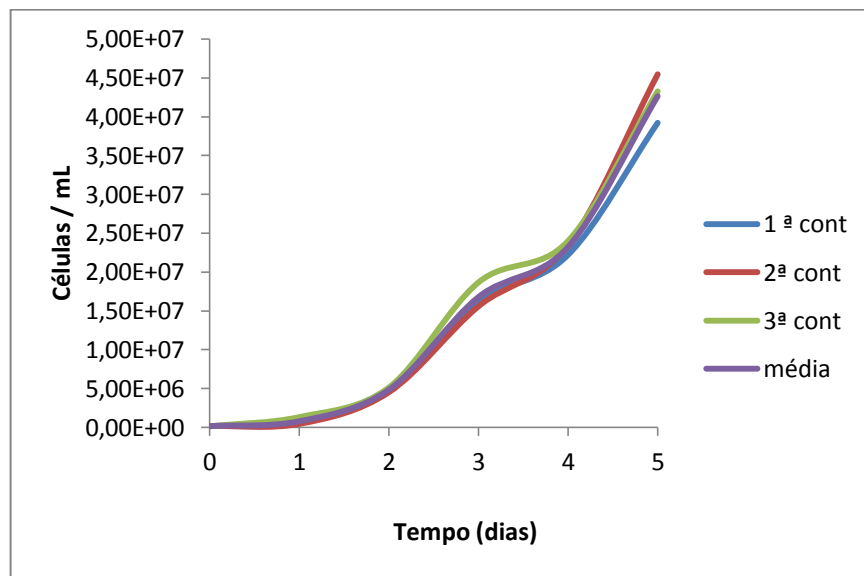
A Figura 8 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB na porcentagem de 60% como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM). O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $2,62 \times 10^6$ finalizando com número de células de $5,52 \times 10^6$. O desenvolvimento ocorreu de forma lenta, não apresentando significativo incremento de células, o que inviabiliza o uso dessa proporção no cultivo da *Chlorella sp* para obtenção de lipídios.

Figura 8 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 60% de efluente de UASB



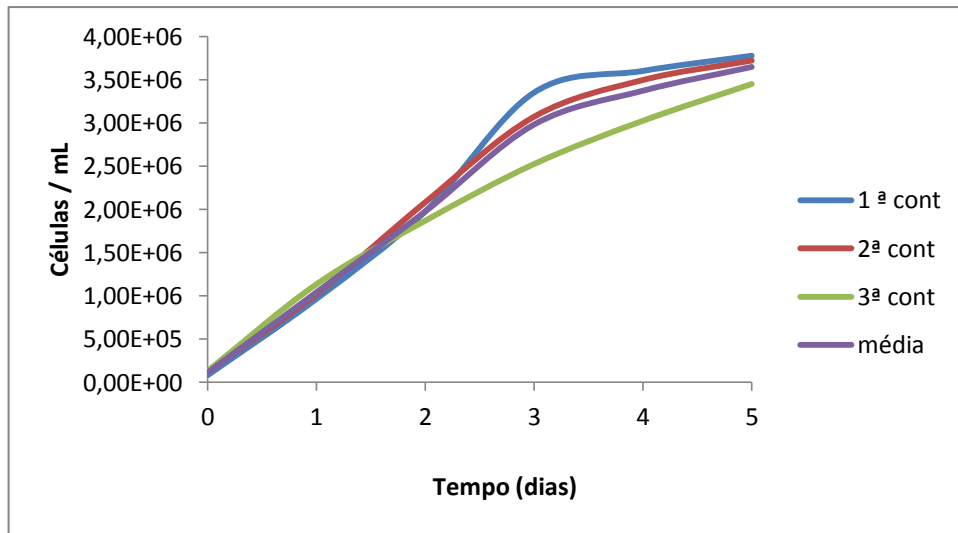
A Figura 9 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB na porcentagem de 70% como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) para otimizar a produção da microalga em estudo. Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Chlorella sp*, pode-se verificar que o número máximo de células alcançado foi de $4,27 \times 10^7$, correspondente ao último dia de contagem. O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $1,78 \times 10^6$. O desenvolvimento ocorreu de forma lenta, mas com elevada taxa de crescimento.

Figura 9 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 70% de efluente de UASB



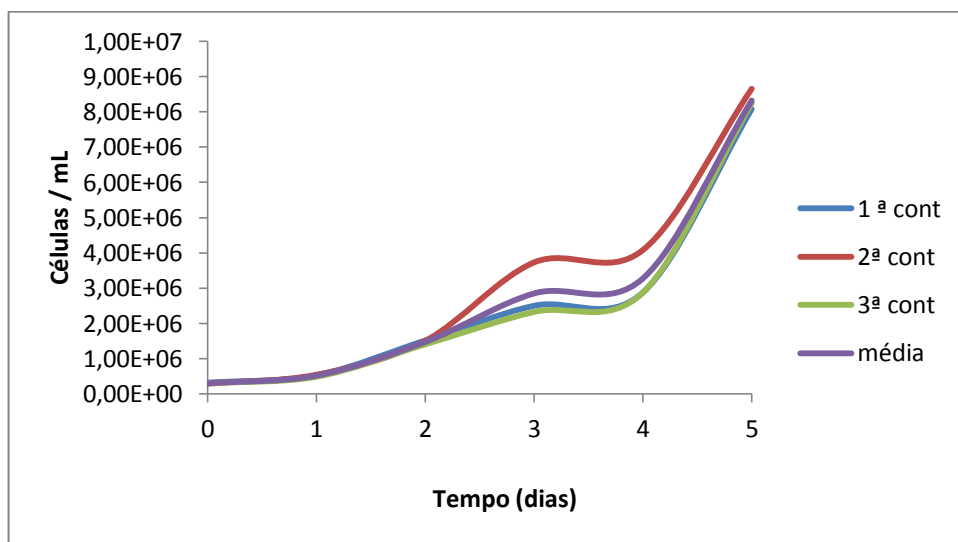
A Figura 10 representa a curva de crescimento da *Chlorella sp* com acréscimo de 90% do efluente UASB ao meio de cultura. Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Chlorella sp*, pode-se verificar que o número máximo de células alcançado foi de $3,65 \times 10^7$. O cultivo apresentou, no início, uma concentração celular de $1,13 \times 10^6$. Houve um declínio do número de células após o terceiro dia de cultivo que pode ter ocorrido devido a possível presença de sólidos suspensos pela maior concentração de UASB.

Figura 10 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 90% de efluente de UASB



A curva de crescimento da *Chlorella sp* em meio de cultivo BBM com adição de 100% de efluente UASB é ilustrada na Figura 11. O cultivo teve início apresentando densidade populacional média de $3,01 \times 10^5$ células/mL. Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Chlorella sp*, foi possível verificar que o número máximo de células alcançado foi de $8,33 \times 10^6$ células/mL. Houve uma adaptação lenta, mas com elevada taxa de crescimento.

Figura 11 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em cultivo BBM com 100% de efluente de UASB

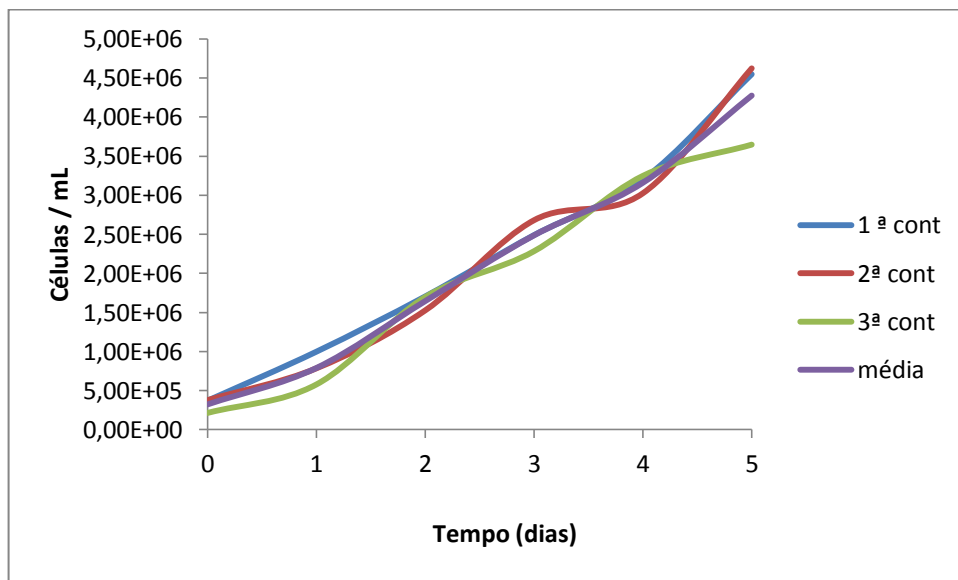


5.2 Crescimento da *Chlorella sp* em 50% do resíduo de cultivo de UASB

Os próximos estudos mostram o crescimento do cultivo da microalga *Chlorella sp* com adição de 50% do efluente de UASB. Segundo Cunha (2014), a microalga *Chlorella sp* apresentou ótimo crescimento celular utilizando a suplementação do efluente de UASB na proporção de 60% (4,15x), seguido da proporção de 100% (3,40x).

Nesse sentido, buscando o crescimento ótimo celular e destinação adequada para o resíduo líquido de efluente UASB, utilizou-se o processo da centrifugação nos estudos realizados anteriormente relativos às proporções de 60 e 100% de efluente de UASB, para separação da biomassa e reutilização do resíduo de cultivo. A Figura 12 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com 50% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 60%.

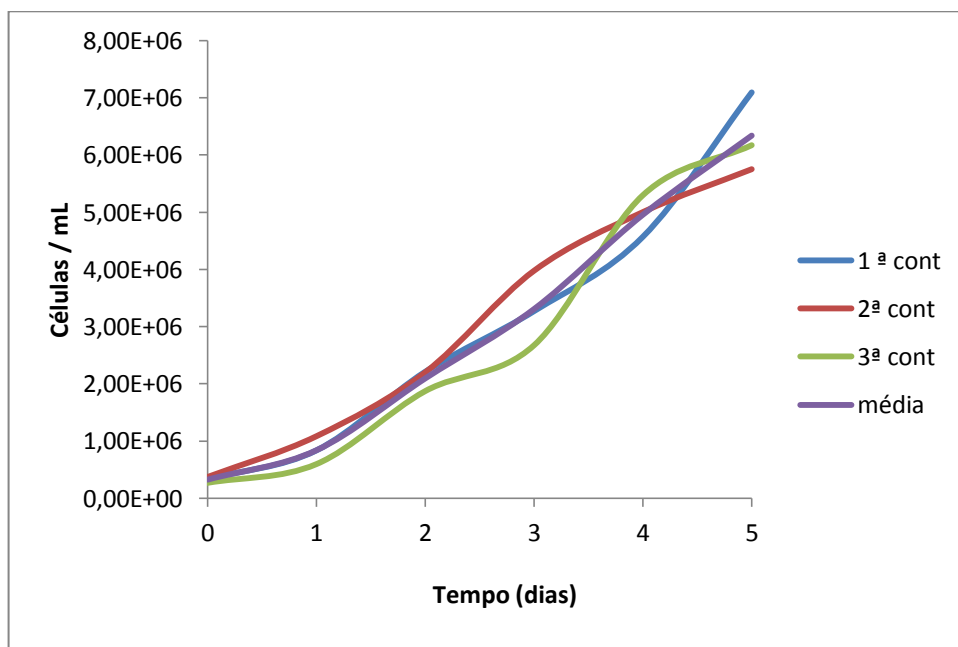
Figura 12 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 50% do efluente de UASB + 50% do resíduo de cultivo de UASB (60%)



Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Chlorella sp*, pode-se verificar que o número máximo de células alcançado foi de 4,28x. O cultivo apresentou, no início, concentração celular de 3,19x. Houve crescimento lento, não apresentando significativo incremento de células, o que inviabiliza o uso dessas proporções no cultivo da *Chlorella sp* para extração de lipídios.

A Figura 13 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com 50% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 100%. O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $3,24 \times 10^6$ finalizando com número de células de $6,34 \times 10^6$. Pode-se observar que não houve aumento bastante significativo de crescimento celular com relação ao estudo anterior.

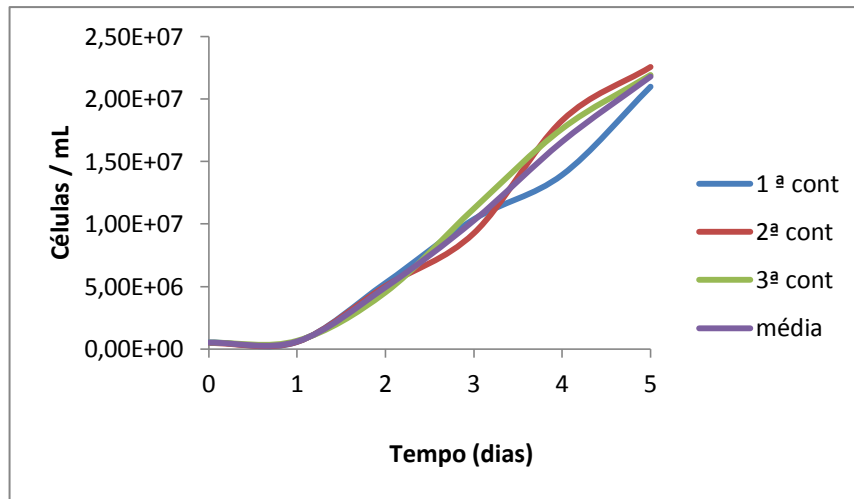
Figura 13 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 50% do efluente de UASB + 50% do resíduo de cultivo de UASB (100%)



5.3 Crescimento da *Chlorella sp* em 65% do resíduo de cultivo de UASB

Esse estudo mostra o crescimento do cultivo da microalga *Chlorella sp* com adição de 35% do efluente de UASB. Buscando o crescimento ótimo celular e destinação adequada para o resíduo líquido de efluente UASB, também foram utilizados 65% dos resíduos de cultivo relativos às proporções de 60 e 100% de efluente de UASB sem adição de BBM. A Figura 14 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com 65% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 60%.

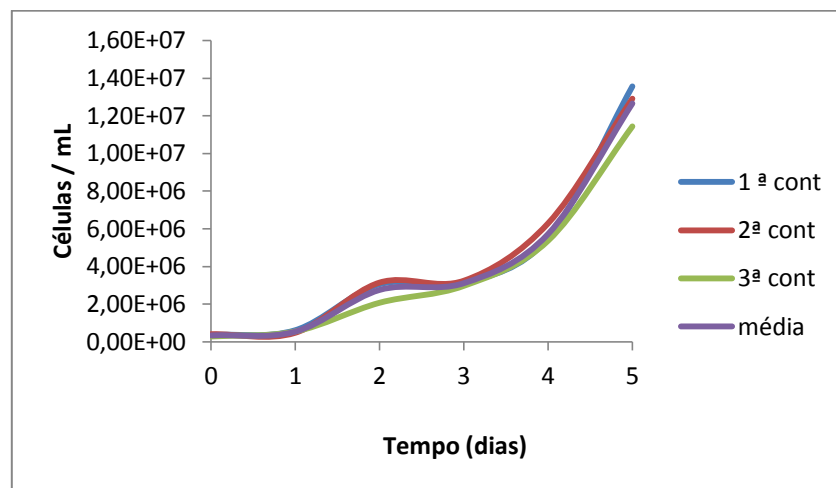
Figura 14 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 35% do efluente de UASB + 65% do resíduo de cultivo de UASB (60%)



De acordo com a Figura 14, é possível observar que ao término do experimento o número máximo de células alcançado foi de $2,18 \times 10^7$. O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $4,93 \times 10^0$. Houve crescimento celular acelerado e bastante significativo o que viabiliza o uso dessas proporções no cultivo da *Chlorella sp*.

O gráfico apresentado na Figura 15 permite identificar que o cultivo realizado com 65% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 100% atingiu o crescimento ótimo no final do estudo, com número de células em torno de $1,27 \times 10^7$ apresentando resultado similar ao estudo anterior.

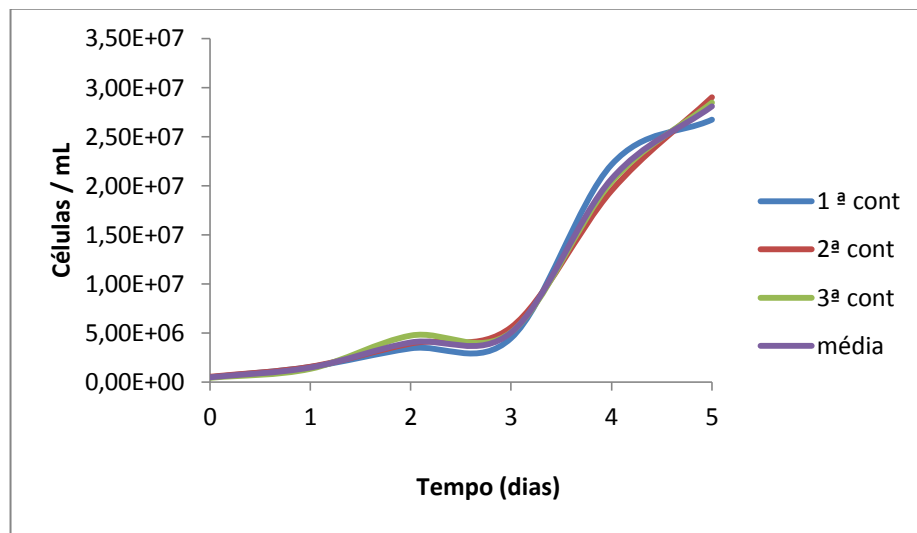
Figura 15 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 35% do efluente de UASB + 65% do resíduo de cultivo de UASB (100%)



5.4 Crescimento da *Chlorella sp* em 80% do resíduo de cultivo de UASB

Esse estudo mostra o crescimento do cultivo da microalga *Chlorella sp* com adição de 20% do efluente de UASB. Também foram utilizados 80% do resíduo de cultivo (2ª centrifugação) relativo à proporção de 65% (1ª centrifugação) dos resíduos de cultivo de 60 e 100% do efluente de UASB. A Figura 16 representa a curva de crescimento do cultivo realizado com 80% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 65% do resíduo de cultivo de 60%.

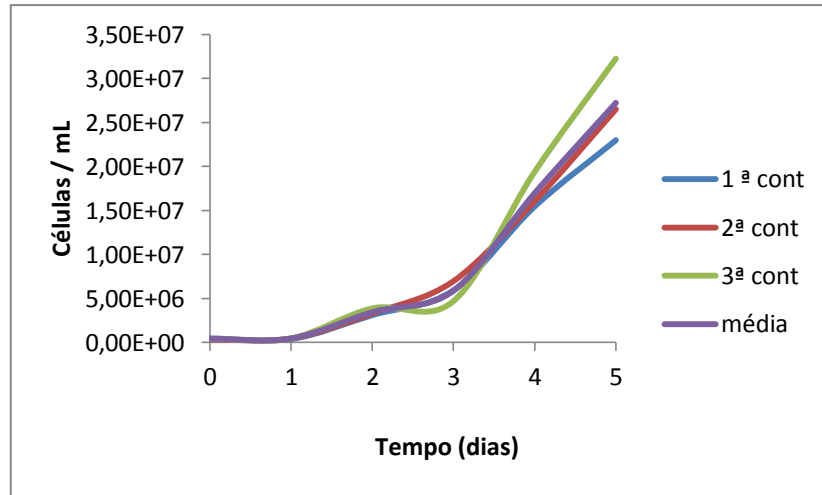
Figura 16 – Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 20% do efluente de UASB + 80% do resíduo de cultivo de UASB (65%) do resíduo de cultivo de 60%



De acordo com a Figura 16, é possível observar que ao término do experimento o número máximo de células alcançado foi de $2,81 \times 10^7$. O cultivo foi iniciado com uma concentração celular de $5,02 \times 10^6$. Houve crescimento celular acelerado e bastante significativo o que viabiliza o uso dessas proporções no cultivo da *Chlorella sp*.

O gráfico apresentado na Figura 17 permite identificar que o cultivo realizado com 80% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 65% do resíduo de cultivo na proporção de 100% atingiu o crescimento ótimo no final do estudo, com número de células em torno de $2,73 \times 10^7$ apresentando resultado similar ao estudo anterior.

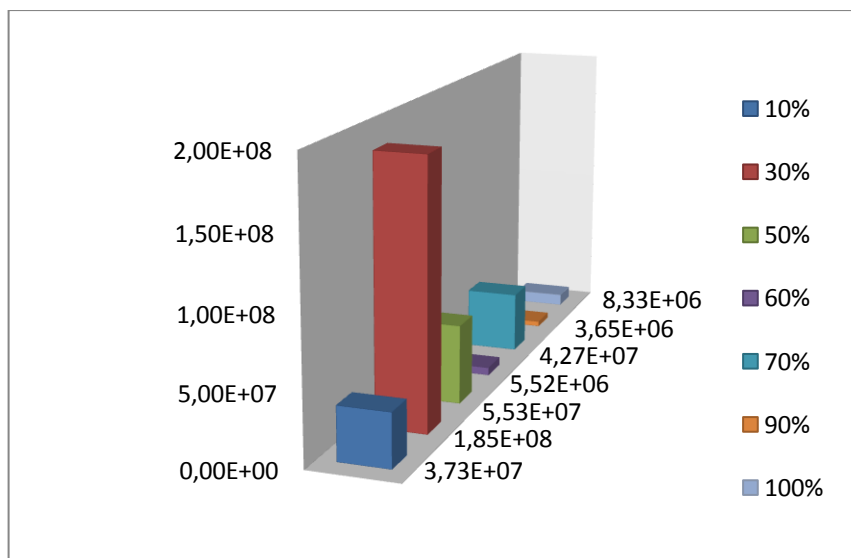
Figura 17 - Curva de crescimento da *Chlorella sp* em 20% do efluente de UASB + 80% do resíduo de cultivo de UASB (65%) do resíduo de cultivo de 100%



5.5 Comparativo entre os cultivos

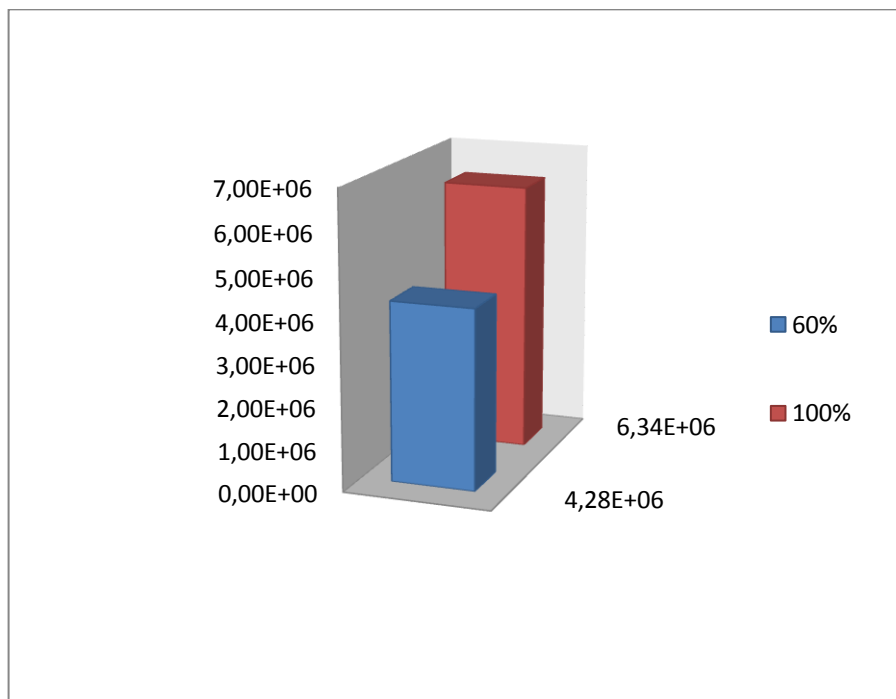
A Figura 18 representa o comparativo entre os cultivos obtidos com suplementação de 10 a 100% de efluente UASB. A curva de crescimento do cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) na porcentagem de 30% apresentou maior desempenho para produção de biomassa com número máximo de células de 1,85x. As outras concentrações não devem ser desprezadas e podem ser utilizadas sem suplementação de meio sintético.

Figura 18 – Comparativo entre os cultivos suplementados com efluente de UASB nas proporções de 10 a 100%



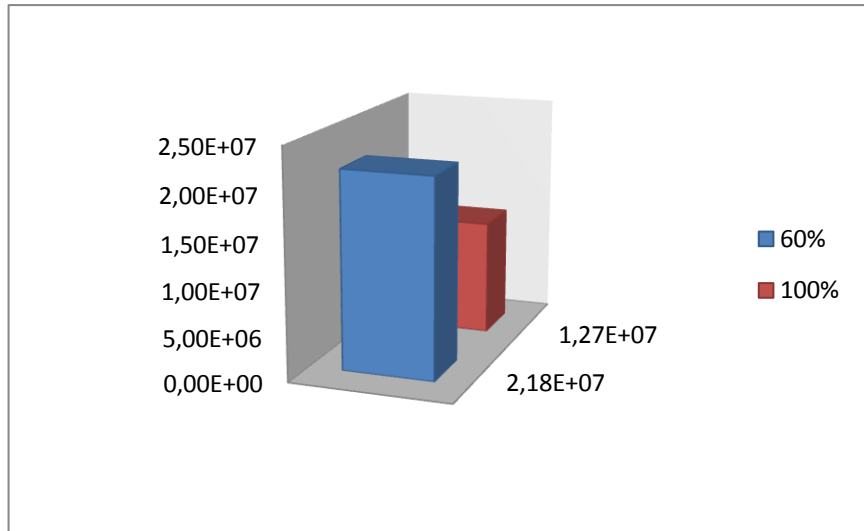
Os cultivos realizados em 50% do resíduo de cultivo de UASB encontram-se representados na Figura 19. Pode-se verificar que o cultivo realizado com 50% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 100% apresentou melhor desempenho com uma concentração celular de $6,34 \times 10^6$, no entanto, houve crescimento lento, não apresentando significativo incremento de células, o que inviabiliza o uso dessas proporções no cultivo da *Chlorella sp* para extração de lipídios.

Figura 19 – Comparativo entre os cultivos suplementados em 50% do resíduo de cultivo relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB



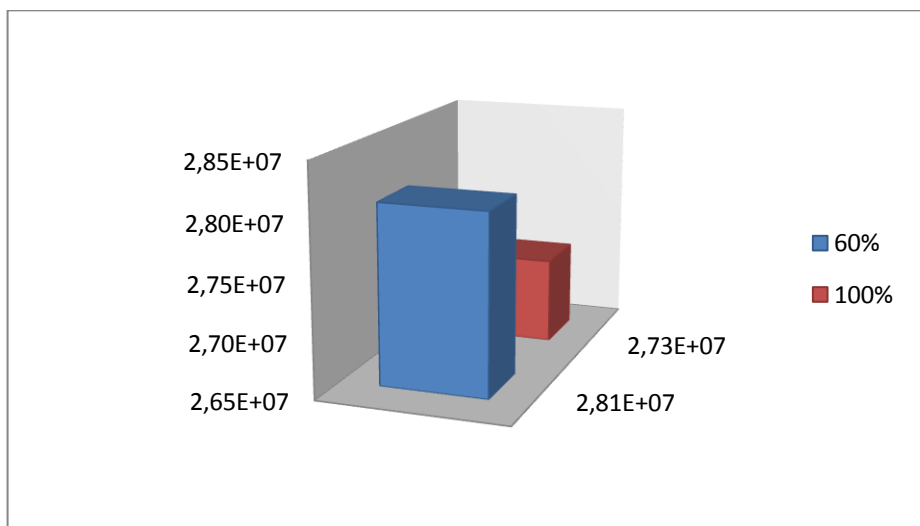
A Figura 20 representa o comparativo entre os cultivos realizados em 65% do resíduo de cultivo de efluente UASB. A curva de crescimento do cultivo realizado com 65% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 60% apresentou maior desempenho para produção de biomassa com número máximo de células de $2,18 \times 10^6$. Houve crescimento significativo de células com relação ao estudo anterior.

Figura 20 – Comparativo entre os cultivos suplementados em 65% do resíduo de cultivo relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB



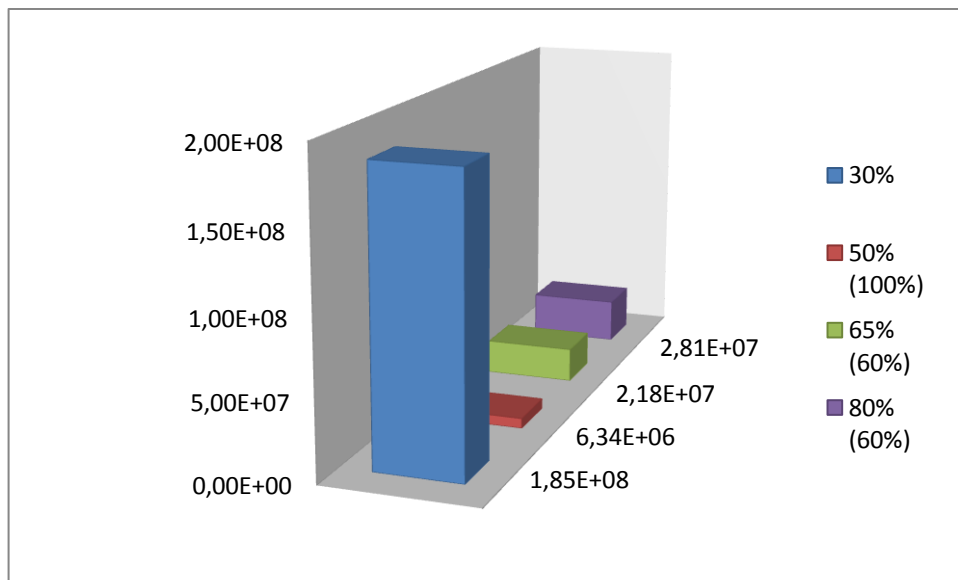
Os cultivos suplementados em 80% do resíduo de cultivo de 65% relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB encontram-se representados na Figura 21. Pode-se verificar que o cultivo relativo à proporção de 60% apresentou melhor desempenho com uma concentração celular de $2,81 \times 10^7$. Houve crescimento acelerado, apresentando significativo incremento de células, o que viabiliza o uso dessa proporção no cultivo da *Chlorella sp.* A reutilização dos cultivos promove a não geração de metabólitos podendo inviabilizar o desenvolvimento dos microrganismos. No entanto, a *Chlorella sp* obteve crescimento satisfatório utilizando o resíduo da centrifugação após duas separações.

Figura 21 – Comparativo entre os cultivos suplementados em 80% do resíduo de cultivo de 65% relativos às proporções de 60% e 100% de efluente UASB



Dentre todos os experimentos estudados, a suplementação com 30% de efluente UASB apresentou melhor rendimento com número máximo de células de $1,85 \times 10^8$ como apresentado na Figura 22, viabilizando o uso dessa proporção no cultivo da *Chlorella sp* e possibilitando a extração de lipídios para produção de biodiesel. É importante salientar que todas as proporções utilizadas permitiram o desenvolvimento da *Chlorella sp* e não devem ser desprezadas.

Figura 22 – Comparativo entre todos os cultivos realizados no estudo



5.6 Planejamento experimental

5.6.1 Estudo estatístico do crescimento da *Chlorella sp* em meio BBM com adição de efluente UASB

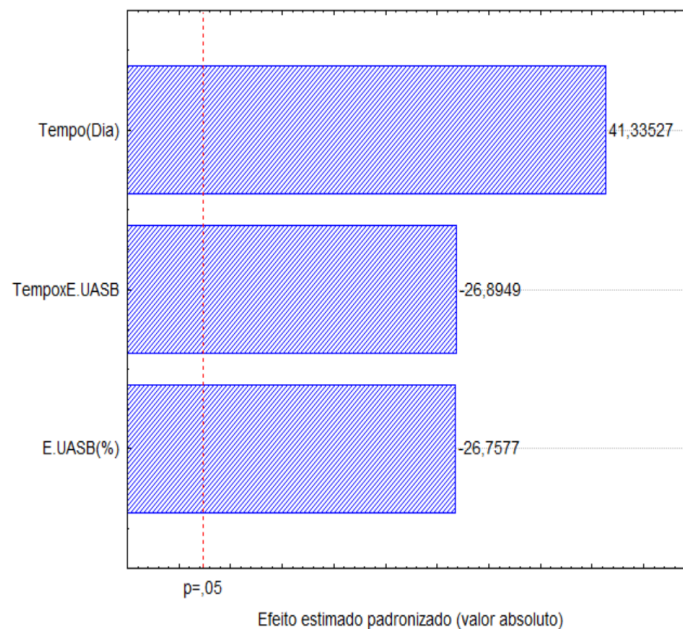
A Figura 23 representa o diagrama de Pareto. O diagrama é uma ferramenta de qualidade que estabelece uma ordenação nas causas de perdas que devem ser sanadas por meio de um recurso gráfico. O diagrama auxilia na compreensão da ação que trará o maior resultado, ordenando as ocorrências de forma decrescente, permitindo a localização dos problemas e eliminação de perdas futuras.

A ferramenta permite também a inclusão de valores em porcentagens e valores acumulados de ocorrências, sendo possível avaliar o efeito acumulado dos itens pesquisados. Sua maior utilidade é a de permitir uma fácil visualização e

identificação das causas ou problemas mais importantes, possibilitando a concentração de esforços sobre os mesmos.

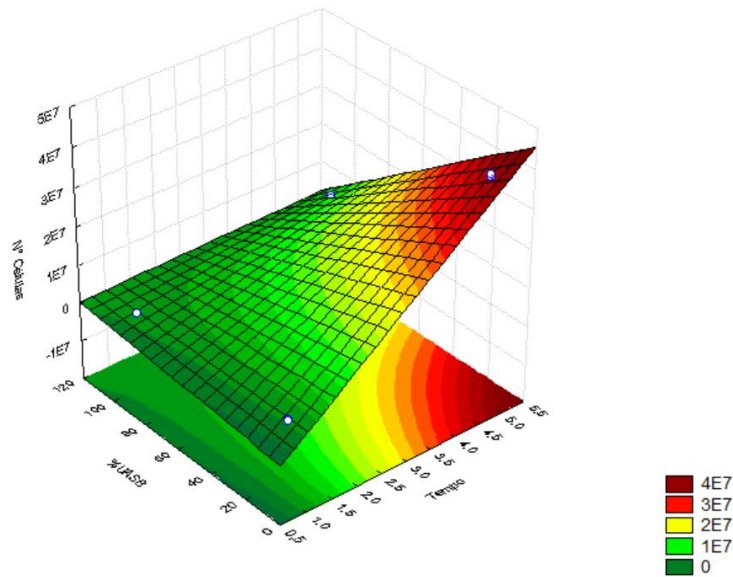
A Figura 23 apresenta o Diagrama de Pareto para a análise do efeito da variável dependente máxima concentração de biomassa, observa-se que as duas variáveis de controle, tempo (dia) e concentração do efluente UASB (%), bem como a interação entre as variáveis, contribuíram para a variável resposta com nível de significância de 5%, indicando uma possibilidade de validade do modelo estatístico para a análise em questão, que poderá ser verificado com o uso da Anova e modelo de regressão da análise. Portanto pode-se afirmar que os efeitos são estatisticamente importantes e devem ser considerados no modelo matemático.

Figura 23 – Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando o efluente de UASB em BBM, obtido no planejamento experimental



A Figura 24 ilustra a superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada com efluente de UASB. O eixo x representa o tempo, o eixo y a concentração do efluente UASB, e o eixo z a concentração de biomassa gerada.

Figura 24 – Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada com efluente de UASB

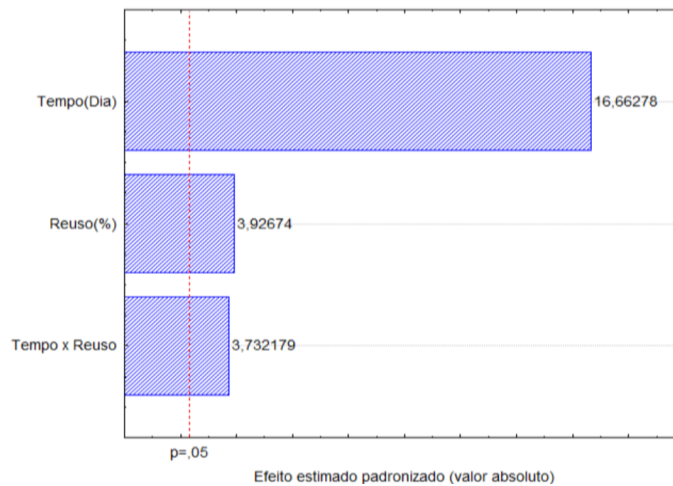


A Figura 24 permite identificar que o cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) na porcentagem de 30%, foi o que melhor se desenvolveu, apresentando, desse modo, maior densidade celular. O número máximo de células alcançado foi de $1,85 \times 10^7$. A concentração de células elevada possibilita maior geração de teor de lipídios.

5.6.2 Estudo estatístico do crescimento da *Chlorella sp* em 50% do resíduo de cultivo de UASB

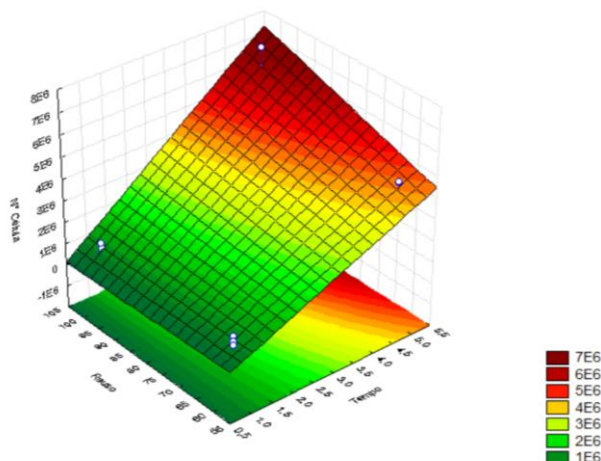
A Figura 25 apresenta o Diagrama de Pareto para a análise do efeito da variável dependente máxima concentração de biomassa, observa-se que as duas variáveis de controle, tempo (dia) e concentração do efluente (%), bem como a interação entre as variáveis, contribuíram para a variável resposta com um nível de significância de 5%, indicando uma possibilidade de validade do modelo estatístico para a análise em questão, que poderá ser verificado com o uso da Anova e modelo de regressão da análise. Portanto pode-se afirmar que os efeitos são estatisticamente importantes e devem ser considerados no modelo matemático.

Figura 25– Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando 50% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental



A Figura 26 ilustra a superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 50% do resíduo de cultivo de UASB. O eixo x representa o tempo, o eixo y a concentração do efluente UASB, e o eixo z a concentração de biomassa gerada.

Figura 26 – Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 50% do resíduo de cultivo de UASB

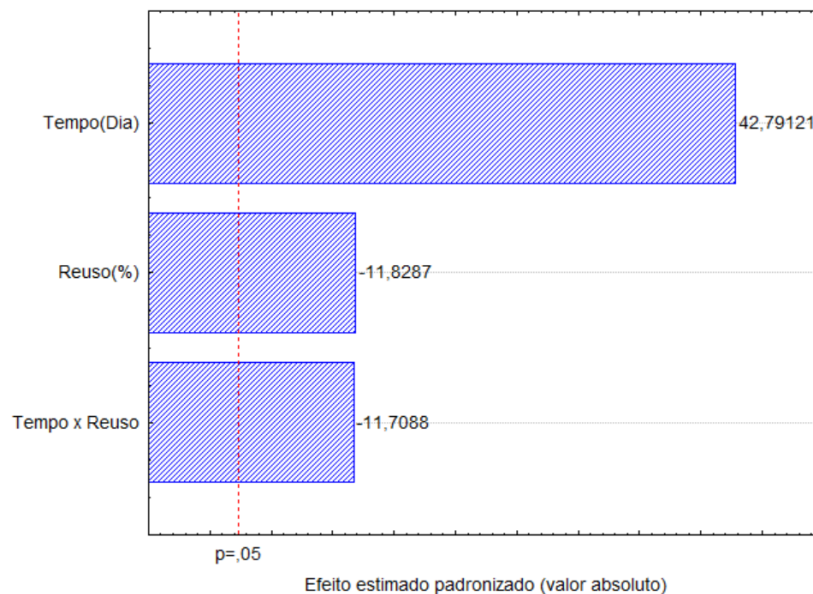


A Figura 26 permite identificar que o cultivo realizado com 50% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 100%, foi o que melhor se desenvolveu, apresentando, desse modo, maior densidade celular e maior velocidade de crescimento. O número máximo de células alcançado foi de 6,34x

5.6.3 Estudo estatístico do crescimento da *Chlorella sp* em 65% do resíduo de cultivo de UASB

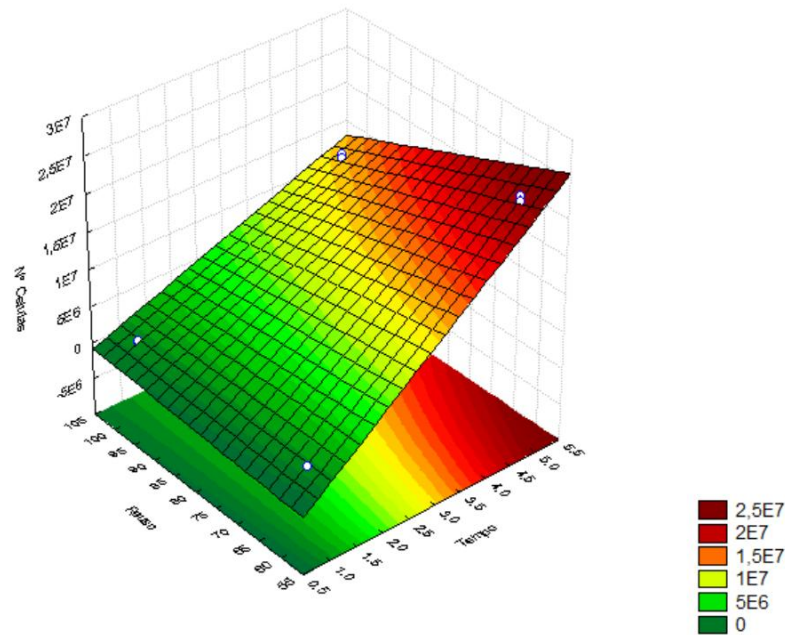
A Figura 27 apresenta o Diagrama de Pareto para a análise do efeito da variável dependente máxima concentração de biomassa, observa-se que as duas variáveis de controle tempo (dia) e concentração do efluente (%), bem como a interação entre as variáveis, contribuíram para a variável resposta com um nível de significância de 5%, indicando uma possibilidade de validade do modelo estatístico para a análise em questão, que poderá ser verificado com o uso da Anova e modelo de regressão da análise. Portanto pode-se afirmar que os efeitos são estatisticamente importantes e devem ser considerados no modelo matemático.

Figura 27 – Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima concentração de biomassa utilizando 65% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental



A Figura 28 ilustra a superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 65% do resíduo de cultivo de UASB. O eixo x representa o tempo, o eixo y a concentração do efluente UASB, e o eixo z a concentração de biomassa gerada.

Figura 28 – Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 65% do resíduo de cultivo de UASB

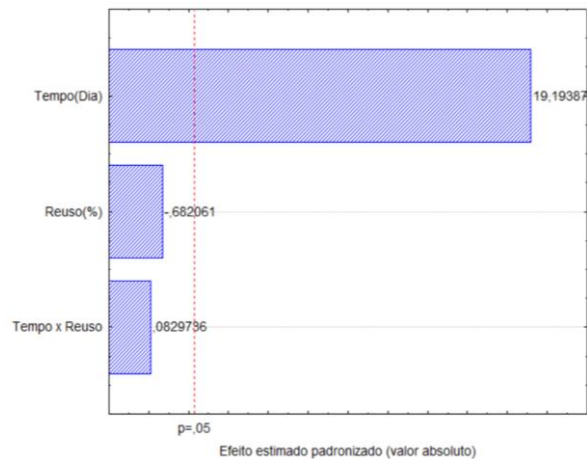


A Figura 28 permite identificar que o cultivo realizado com 65% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 60%, foi o que melhor se desenvolveu, apresentando, desse modo, maior densidade celular e maior velocidade de crescimento. O número máximo de células alcançado foi de 2,18x

5.6.4 Estudo estatístico do crescimento da *Chlorella sp* em 80% do resíduo de cultivo de 65% do resíduo de cultivo de UASB

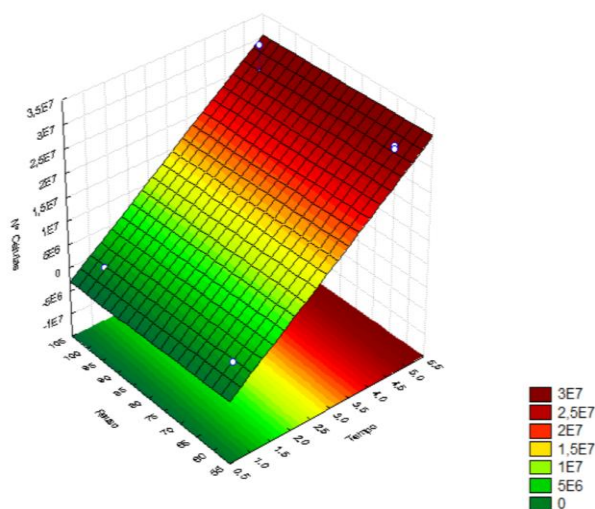
A Figura 29 apresenta o Diagrama de Pareto para a análise do efeito da variável dependente máxima concentração de biomassa, observa-se que apenas a variável tempo (dia) comportou-se de forma significativa, já a variável reuso (%) e a interação entre as variáveis não apresentaram significância para o modelo em estudo, e devem, portanto serem suprimidas do modelo matemático, para um nível de significância de 5%.

Figura 29 – Diagrama de Pareto para avaliação do efeito da variável dependente, máxima contração de biomassa utilizando 80% do resíduo de cultivo de UASB, obtido no planejamento experimental



A Figura 30 ilustra a superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 80% do resíduo de cultivo de 65% de UASB. O eixo x representa o tempo, o eixo y a concentração do efluente UASB, e o eixo z a concentração de biomassa gerada.

Figura 30 – Superfície de resposta para o modelo de concentração de biomassa cultivada em 80% do resíduo de cultivo de 65% de UASB



A Figura 30 permite identificar que o cultivo realizado com 80% do resíduo de cultivo obtido na centrifugação relativa à proporção de 65% do resíduo de cultivo de 60% foi o que melhor se desenvolveu, apresentando maior densidade celular e maior velocidade de crescimento. O número máximo de células alcançado foi de 2,81x

5.7 Remoção biológica de fósforo

A remoção biológica de fósforo geralmente é realizada por sistemas combinados apresentando fases consecutivas de anaerobiose e aerobiose. Nesses sistemas, o fósforo é incorporado ao lodo para ser descarregado junto com o lodo de excesso (VAN HAANDEL e MARAIS, 1999).

A precipitação química é o método usual de remoção e consiste na adição de uma elevada concentração de sais, de modo que o custo com produtos químicos é bastante elevado e a massa de lodo químico apresenta volume considerável (SCHMIDELL et al., 2007).

Atualmente, o processo biológico é a forma mais utilizada de remoção e parte do princípio de acumulação de fosfato pelas bactérias heterotróficas presentes na biomassa ativa dos lodos ativados, se houverem condições ótimas para seu crescimento e metabolismo (WANG et al., 2008). Nesses sistemas pode-se esperar uma fração de massa de fósforo de 8 a 10 mgP.mg⁻¹SVS, dependendo da concentração e composição do material orgânico no afluente, bem como das condições operacionais e ambientais definidas no reator (MOTA e VON SPERLING, 2009).

A existência de uma zona anaeróbia em sistemas de lodo ativado, garante a melhor eficiência do mecanismo de remoção. Pesquisas recentes apontam o elevado desempenho de reatores que operam em fases anaeróbia/anóxica/aeróbia. Chung e Ouyang (2000), por exemplo, obtiveram eficiência de 100% de remoção de fósforo total. Costa (2005), trabalhando com reator híbrido em bateladas sequenciais (RHBS) obteve uma eficiência de remoção de 80% de fosfato.

A Tabela 1 apresenta os valores das eficiências típicas de remoção de fósforo total alcançadas por diversos métodos de tratamento conhecidos.

Tabela 1- Eficiências típicas de remoção de fósforo nos sistemas de tratamento de esgotos domésticos

Sistema	Eficiência média de remoção de P total (%)
Tratamento primário (tanques sépticos)	<35
Tratamento primário convencional	<35
Tratamento primário avançado (a)	75-90
Lagoa facultativa	<35
Lagoa anaeróbia - lagoa facultativa	<35
Lagoa aerada facultativa	<35
Lagoa aerada mistura completa - lagoa sedimentação	<35
Lagoa anaeróbia + lagoa facult. + lagoa de maturação	>50
Lagoa anaeróbia + lagoa facult. + lagoa de alta caixa	50-60
Lagoa anaeróbia + lagoa facult. + remoção de algas	<35
Infiltração lenta	>85
Infiltração rápida	>50
Escoamento superficial	<35
Terras úmidas construídas	<35
Tanques sépticos + filtro anaeróbio	<35
Reator UASB	<35
UASB + lodos ativados	<35
UASB + filtro anaeróbio	<35
UASB + flotação por ar dissolvido	75-88
UASB + lagoa aerada facultativa	<35
Lodos ativados convencional	<35
Lodos ativados - aeração prolongada	<35
Lodos ativados – batelada	<35
Filtro biológico percolador de baixa carga	<35
Filtro biológico percolador de alta carga	<35
Bifiltro aerado submerso com remoção biológica de N.	<35
Biodisco	<35

Fonte: adaptada de SPERLING (2005).

Muitos estudos também comprovam a eficiência da utilização das microalgas na remoção de nutrientes. Esse processo reduz custos e evita o descarte de resíduos líquidos em corpos receptores de água (XIN et al., 2010; BONINI, 2012). A absorção celular e extração de amônia por meio da elevação de pH são as principais formas de remoção, sendo a *Chlorella* uma das espécies mais utilizadas (LEE e LEE, 2001; KUMAR et al., 2010).

A remoção de nutrientes como fósforo assume um papel importante porque o mesmo pode ser considerado um nutriente limitante para o crescimento de organismos fotossintetizantes e a restrição de sua concentração dificulta a evolução da eutrofização. As algas assimilam o fósforo inorgânico promovendo o

desenvolvimento de outros mecanismos como a adsorção e precipitação do fosfato, por meio do processo fotossintético.

As formas mais utilizadas pelas algas são os polifosfatos e os metafosfatos que são encontrados em maior quantidade quando a concentração de fósforo encontra-se elevada. A forma solúvel do polifosfatos é utilizada em seu metabolismo e a forma insolúvel é armazenada em condições limitantes (POWELL et al.,2008).

A taxa de consumo de fósforo pelas algas depende da concentração de fósforo no ambiente e na célula, do pH e da temperatura. Kim et al. (1998) constataram uma remoção de 96% de fósforo pela espécie *Chlorella vulgaris* em efluentes de suínos tratados secundariamente. Traviesco et al. (2008) obtiveram uma remoção de fósforo total equivalente a 95,5% utilizando microalgas cultivadas em reator anaeróbio para o tratamento de efluentes de destilarias. Aslan e Kapdan (2006) obtiveram 78% de eficiência na remoção de $-P$ utilizando iluminação artificial.

Visto que o reator UASB apresenta baixa eficiência na remoção de nutrientes, deve-se realizar um polimento final que permita o lançamento do efluente de acordo com os padrões vigentes. Nesse sentido, foram realizadas determinações analíticas para verificar o potencial de remoção de fósforo pela microalga *Chlorella sp.* Os índices de remoção de fósforo encontram-se dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Remoção de fósforo nos cultivos estudados

CULTIVO	ANTES DO INÓCULO		DEPOIS DO INÓCULO		REMOÇÃO (%)	
	P _{TOTAL} (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	P _{TOTAL} (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	P _{TOTAL}	PO ₄ ³⁻
10% de efluente UASB	40,55	37,88	36,83	36,83	9,17	2,77
30% de efluente UASB	34,87	26,89	25,36	26,71	27,27	0,67
50% de efluente UASB	26,3	24,63	23,81	23,33	9,47	5,28
60% de efluente UASB	27,86	25,07	14,99	15,29	46,20	39,01
70% de efluente UASB	99,57	42,02	16,58	15,23	83,35	63,76
90% de efluente UASB	27,16	24,66	15,43	14,61	43,19	40,75
100% de efluente UASB	26,22	25,61	15,39	13,96	41,30	45,49
50% de efluente UASB (60%)	20,59	15,26	16,42	12,25	20,25	19,72
50% de efluente UASB (100%)	5,94	4,88	3,46	3,32	41,75	31,97
65% de efluente UASB (60%)	89,17	18,65	54,32	3,58	39,08	80,80
65% de efluente UASB (100%)	43,92	3,16	32,31	3,1	26,43	1,90
80% de 65% de UASB (60%)	71,88	6,02	36,08	1,56	49,81	74,09
80% de 65% de UASB (100%)	68,84	11,83	31,55	6,56	54,17	44,55

A microalga *Chlorella sp* apresentou eficiência máxima no cultivo suplementado com 70% do efluente de UASB, obtendo remoção em torno de 64% para ortofosfato e 84% para fósforo total. A eficiência média de remoção obtida pela *Chlorella sp* foi de aproximadamente 38% para fósforo total e 35% para ortofosfato, o que equivale à média de muitos sistemas de tratamento elencados na Tabela 1.

É importante salientar que a absorção de fósforo é influenciada pela luz, temperatura, tempo de incubação e concentração de fosfato presente no efluente (POWELL et al., 2009). Os resultados do estudo permitem inferir que a *Chlorella sp* é uma alternativa viável ao tratamento de efluentes já que as microalgas são mais resistentes a diversos compostos químicos apresentando vantagens quando comparados às bactérias nitrificantes. Para melhor aplicabilidade e rendimento do tratamento, parâmetros como luz e pH devem ser otimizados proporcionando maior remoção de fósforo e maior desenvolvimento de microalga.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo demonstrou que diversos programas de pesquisa têm investido em biotecnologia microalgal propiciando o desenvolvimento de técnicas para produção em larga escala, aproveitando integralmente a biomassa gerada e indicando as melhores possibilidades de aplicação.

O cultivo realizado com efluente do reator tipo UASB como suplemento ao *Bold's Basal Medium* (BBM) na porcentagem de 30%, apresentou excelente desempenho com densidade celular máxima equivalente a 1,85x . O desenvolvimento da biomassa com elevada produtividade permite a extração de grandes concentrações de lipídios viabilizando a produção de biodiesel.

Os cultivos oriundos da centrifugação permitiram o crescimento da microalga *Chlorella sp* viabilizando sua reutilização como suplementação nutricional. O estudo realizado em 80% do resíduo de cultivo relativo à proporção de 65% do efluente de UASB (100%) apresentou crescimento acelerado e significativo incremento de células.

A eficiência média de remoção obtida pela *Chlorella sp* foi de aproximadamente 38% para fósforo total e 35% para ortofosfato o que permite incluir o uso de microalgas dentre as alternativas para tratamento de efluentes, apresentando desempenho equivalente aos demais sistemas elencados.

Desta forma, a possibilidade de integração do sistema de cultivo de microalgas com o saneamento ambiental e com os processos de obtenção de biocombustíveis para aproveitamento integral da biomassa gerada pode aprimorar o processo difundindo seu uso.

7 PERSPECTIVAS

Esse trabalho corresponde a um estudo preliminar que poderá ser aperfeiçoado e se tornar um projeto com ambições mais amplas visando à otimização do crescimento de microalgas em águas residuais para viabilizar a produção de biocombustíveis. É válido ressaltar que as microalgas exercem um papel fundamental na depuração de efluentes. Neste sentido, novos estudos devem ser realizados para que esse objetivo seja alcançado, merecendo destaque:

- Estudo do potencial de biorremediação da *Chlorella sp* em relação a outros compostos químicos como metais pesados e demais poluentes;
- Estudo do tempo de cultivo ideal para possibilitar o maior consumo de nutrientes pela microalga *Chlorella sp*;
- Estimativa da quantidade de lipídios e carboidratos gerados após o cultivo;
- Estudo da qualidade da biomassa microalgal produzida;
- Determinação da temperatura e fotoperíodo ideais de crescimento da microalga para maximizar a produção de biomassa;
- Estudo sobre o efeito da concentração de íons de hidrogênio nos cultivos estabelecendo a melhor faixa de pH para crescimento da *Chlorella sp*;
- Estudo de outras espécies de microalgas que possam garantir maiores taxas de produção de biomassa sem comprometer a remoção de nutrientes;
- Estudo da viabilidade econômica avaliando os custos de implementação desta tecnologia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AISSE, M.; BONA, A.; JURGENSEN, D. **Filtração rápida de efluentes de processo físico-químico com flotação**. [S.l.: s.n.], 2006.

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

AZEVEDO, S.M.F.O; BRANDÃO, C.C.S. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. Brasília, DF: FUNASA, 2003.

BASHAN, Y. et al. **Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potencial products**. v.45, n.1, p.11-36, 2011.

BENEMANN, J. R. **Microalgae products and production: an overview**. Journal of Industrial Microbiology, v.31, n.5, p.247-256,1990.

BENEMANN, J.R. Overview: **Algae Oil to Biofuels**, National Renewable Energy Laboratory – Air Force Office of Scientific Research Workshop on Algal Oil for Jet Fuel Production. [S.l.: s.n.], 2008.

BERTOLDI, Fabiano Cleber. REVISÃO: **BIOTECNOLOGIA DE MICROALGAS**. Disponível em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/article/viewArticle/11804>>. Acesso em: 15 out. 2014.

BRASIL, BIODIESEL. **Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel**. Disponível em <<http://www.mme.gov.br/programas/biodiesel/menu/biodiesel/perguntas.html>> Acesso em: 18 out. 2014.

CAMPOS, J. R. **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999.

CHERNICHARO, C.A.L. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. Belo Horizonte: Seprac, 1997.

CHISTI, Y. **Biodiesel from microalgae beats bioethanol**. Trends in Biotechnol, v.26, n.3, p.126-321, 2007a.

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

COLAÇO, Luis. **Utilização de microalgas para mitigação de industrial**. Portugal: [s.n.], 2012.

CORDEIRO, G.; MENEZES, M. **O problema energético do Brasil**. IME - USP, 2013. Disponível em: <<http://www.ime.usp.br/~abe/lista/msg08620.html>> Acesso em: 4 nov. 2014.

COSTA, T. B. **Desempenho de reator em batelada sequencial (RBS) com enchimento escalonado no tratamento de esgoto sanitário doméstico**.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

DEMIRBAS A. **Progress and recent trends in biofuels**. Progress in Energy and Combustion Science. v. 33, p. 1-18, 2007.

FRANCO, P.F. **GLICERINA COMO MATÉRIA-PRIMA PARA MICROORGANISMOS**, 2011. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/glicerina/glicerina-materia-prima-microorganismos-061211.html>> Acesso em: 18 out. 2014.

HAMODA, M.F.; Van den BERG, L. **Effect of Settling on Performance of the Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactors**. Water Research, Journal of the International Association on Water Pollution Research & Control, 1984.

HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina. Superalimento del futuro**. Espanha: Ediciones S.A, 1994.

KIM, S. B.; KIM, C. K.; KWON, C. K.; YOON, B. D.; OH, H. M. **Selection of microalgae for advanced treatment of swine wastewater and optimization of treatment condition**. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, v. 26, p. 76-82, 1998.

LEE, K.; LEE, C.G. **Effect of light/dark cycles on wastewater treatments by microalgae**. Biotechnology and Bioprocess Engineering, v.6. n.6, p. 194-199, 2001.

LEITE, R.C.C; LEAL, M.R.L.V. **O biocombustível no Brasil**. 2007. Disponível em <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/03_000fxggj1i702wyiv80soht9h0kawrk0.pdf> Acesso em: 03 nov. 2014

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.

MAYFIELD, S. **Algal Model, National Renewable Energy Laboratory** – Air Force Office of Scientific Research Workshop on Algal Oil for Jet Fuel Production. [S.l.: s.n.], 2008;

MOLINA_GRIMA, E. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnol.** v. 20, p. 491-515, 2003.

MOTA, Francisco Suetônio Bastos; VON SPERLING, Marcos (coord.). **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009

MUELLER, E.B.; STOUTHAMER, A.H.; VAN VERSEVELD, H.W. Simultaneous oxidation and production at reduced tensions by sewage sludge subcultured with chemolithotrophic medium. **Biodegradation**, v.6, p. 339-349, 1995.

MULBRY, W.; KONDRAD, S.; PIZARRO, C.; KEBEDEVESTHEAD, E. **Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilotscale algal turf scrubbers**. Bioresource Technol, p. 99:8137–42. 2008.

- MUNOZ, R.; GUIEYSSE, B. **Algal - bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review.** Water Res, p. 40:2799–815, 2008.
- PHUKAN, M.M.; CHUTIA, S.R.; KONWAR, K.B.; KATAKI, R. **Microalgae Chlorella as a potential bio-energy feedstock, Applied Energy.** [S.l.: s.n.], 2011.
- POWELL, N.; SHILTON, A. N.; PRATT, S.; CHISTI, Y. **Factors Influencing Luxury Uptake of Phosphorus by Microalgae in Waste Stabilization Ponds.** Environ. Sci. Technol. v. 42, p. 5958-5962, 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.
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biology of Plants.** 7^a ed. Worth Publishers. New York, 2005.
- SCHMIDELL, W. et al. **Tratamento biológico de águas residuárias.** Florianópolis: [s.n.], 2007.
- SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN,C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. **Commercial applications of microalgae.** Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006.
- TEIXEIRA, C.M.; MORALES, M.E. **Microalga como matéria-prima para a produção de biodiesel.** Biodiesel o novo combustível do Brasil, p. 91-96, 2007.
- TOLMASQUIM, M. **As origens da crise energética brasileira.** Ambient. soc. [online]. 2000, n.6-7 [cited 2014-11-25], pp.179-183.
- TRAVIESCO, L.; BENITEZ, F.; SANCHEZ, E.; BORJA, R.; LEON, M.; RAPOSO, F.; RINCON, B. **Assesment of a microalgae pond for post-treatment of the effluent from an anaerobic fixed bed reactor treating distillery wastewater.** Environmental Technology, v. 29, p. 985-992, 2008.
- VAN HAANDEL, A.C.; MARAIS, G.V.R. **O comportamento do sistema de lodo ativado: teoria e aplicações para projetos e operações.** Campina Grande: EPGRAF, 1999.
- VARFOLOMEEV, S.D.; WASSERMAN, L.A. **Microalgae as Source of Biofuel, Food, Fodder and Medicines.** Applied Biochemistry and Microbiology, v.47, n.9, p. 789-807, 2011.
- VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology.** London: Taylor & Francis, 1997.
- VON SPERLING, M.; GONSALVES, R.F. Lodo de esgotos: características produção. In: ANDREOLI, C. V.; VON SPERLING, M.; FERNANDES, F. (org.). Lodo de esgotos: tratamento e disposição final. **Coleção Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias.** UFMG; DESA; SANEPAR, v.6, cap.II, p. 17-68, 2001.

WANG, D. et al. **Biological Phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process.** *Bioresource Technology*, v. 99, n. 13, p. 5466-5473, 2008.

XIN, L. et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus sp.* *Bioresource Technology*, v. 101, p. 5494-5500, 2010.