

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
UNIDADE EM BENTO GONÇALVES
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E BIOTECNOLOGIA

CÁSSIO BRENO REIS CARVALHO VIEIRA

ANÁLISE DE VIABILIDADE DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL
UTILIZANDO DIFERENTES EFLUENTES COMO MEIO DE CULTIVO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

BENTO GONÇALVES, RIO GRANDE DO SUL
DEZEMBRO, 2021

CASSIO BRENO REIS CARVALHO VIEIRA

**ANÁLISE DE VIABILIDADE DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL
UTILIZANDO DIFERENTES EFLUENTES COMO MEIO DE CULTIVO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como à obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia da Universidade Estadual do
Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa. Msc. Marlene Guevara
dos Santos

Coorientadora: Profa. Dra. Fernanda Cabral
Borges

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luís Maciel

BENTO GONÇALVES, RIO GRANDE DO SUL

DEZEMBRO, 2021

Catálogo de publicação na fonte (CIP)

V658a Vieira, Cássio Breno Reis Carvalho

Análise de viabilidade da produção de biomassa microalgal utilizando diferentes efluentes como meio de cultivo/ Cássio Breno Reis Carvalho Vieira. – Bento Gonçalves, 2021.

65 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Unidade em Bento Gonçalves, 2021.

Orientadora: Prof.^a. Me. Marlene Guevara dos Santos

Coorientadora: Prof.^a Dra. Fernanda Cabral Borges

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Luís Maciel

1. Liquefação Hidrotermal. 2. *Scenedesmus*. 3. *Spirulina*. 4. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). I. Santos, Marlene Guevara dos. II. Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Unidade em Bento Gonçalves, 2021. III. Título.

ATA DE AVALIAÇÃO

Aos dezessete dias do mês de dezembro de 2021, realizou-se na Unidade da Uergs em Bento Gonçalves, via google meet, a avaliação do Trabalho de Conclusão do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia do acadêmico abaixo relacionado, com o respectivo título do trabalho apresentado:

Acadêmico(a)	Título do Trabalho
Cássio Breno Reis Carvalho Vieira	"ANÁLISE DE VIABILIDADE DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL UTILIZANDO EFLUENTES COMO MEIO DE CULTIVO"

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

- 1 - *Dr.ª Francine Fioravanso Tramontina*
Pós-doutora em Ciências Biológicas pela UFRGS
- 2 - *Dr.ª Ana Carolina Tramontina*
Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica pela UFRGS
- 3 - *Dr.ª Isabela Holtermann Lagreca*
Doutora em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais pela UFRGS

Os quais conferiram o parecer APROVADO ao trabalho apresentado, que fica arquivado nesta Unidade. Nada mais havendo a constar, assinam a presente ata a Profª. Ma. Marlene Guevara dos Santos, Coordenadora do Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Unidade da Uergs em Bento Gonçalves e orientadora do trabalho, além dos membros da Banca Examinadora.


Dr.ª Francine Fioravanso Tramontina


Dr.ª Isabela Holtermann Lagreca


Dr.ª Ana Carolina Tramontina


Ma. Marlene Guevara dos Santos

Bento Gonçalves, 17 de dezembro de 2021



Dedico este trabalho a
Meus amigos e familiares que tanto
Me apoiaram e viram
Potencial em mim.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão. Aos meus amigos Peters e Vivi por todo apoio que me proporcionaram durante meu trajeto eu atribuo o quão longe cheguei e chegarei. E obrigado pelo amor que me proporcionaram, minha mãe, e meus amigos todos. Um grande obrigado para a professora Marlene por ter feito esse trabalho acontecer, estendendo o meu obrigado a professora Débora e a professora Fernanda pela contribuição muito válida que me deram para este projeto de pesquisa e todos os frutos que outros trabalhos futuros poderão trazer. Obrigado pela paciência de vocês, principalmente.

RESUMO

Efluentes com alta carga orgânica e de nutrientes se apresentam como matéria prima base para a produção de biomassa de microalgas, já que atualmente são um problema a ser tratado nas indústrias, gerando custos de tratamento e resíduos a serem descartados. Alternativamente, tem-se a possibilidade de gerar biomassa que pode ser utilizada como matéria prima para a produção de óleo de microalga, ou que pode ser destinada a produção de biodiesel, ou aproveitamento energético direto por processo de pirólise ou liquefação hidrotermal. Ao se adotar o uso de efluentes na produção de microalgas, troca-se os sistemas tradicionais de tratamento de efluentes anaeróbios, que geram gás metano e gases de enxofre, e aeróbios que geram CO₂, todos gases causadores do efeito estufa, por um cultivo que, ao contrário, irá utilizar o CO₂ atmosférico para o crescimento da biomassa, tornando o tratamento de efluentes uma fonte de fixação direta de carbono das indústrias. Pois em produção de larga escala pretende-se utilizar o gás proveniente das caldeiras industriais de geração de vapor para suprir CO₂ às algas, aumentando sua produtividade. Esse trabalho apresenta o estudo de viabilidade de produção de biomassa microalgal utilizando diferentes efluentes como meio de cultivo e de estimar e extrapolar níveis de produção que poderiam ser atingidos de biomassa e óleo através de diferentes efluentes. Estimando também a produção de bioóleo utilizando como fonte de meio de cultivo para as microalgas esgoto doméstico através do método de liquefação hidrotermal. Assim, o estudo analisou a adaptação, produtividade e geração de biomassa das microalgas *Scenedesmus obliquus* e *Spirulina platensis*, ao efluente de esterco gerado na criação de gado leiteiro confinado e o efluente de uma indústria de processamento de pescados. Os resultados demonstraram uma boa adaptação e produtividade, demonstrando grande potencial na produção de biomassa e por consequência ao tratamento destes efluentes.

Palavras-chave: microalgas, bio-óleo, esterco, pescados, *Spirulina*, *Scenedesmus*, biomassa, liquefação hidrotermal.

ABSTRACT

Effluents with high organic and nutrient load present themselves as raw material basis for the production of microalgae biomass, since they are currently a problem to be treated in the industries, creating treatment costs and waste to be discarded. Alternatively, it is possible to generate biomass that can be used as raw material for the production of microalgae oil, or that can be destined for biodiesel production, or direct energy use through pyrolysis or hydrothermal liquefaction processes. By adopting the use of wastewater for the production of microalgae, the traditional anaerobic wastewater treatment systems, which generate methane gas and sulfur gases, and aerobic systems that generate CO₂, all greenhouse gases, are replaced by a culture that, on the contrary, will use atmospheric CO₂ for biomass growth, making wastewater treatment a direct source of carbon fixation for industries. For large-scale production it's intended to use the gas from industrial boilers to supply CO₂ for the algae, increasing their productivity. This work presents the feasibility study of microalgal biomass production using different effluents as culture medium and to estimate and extrapolate production levels that could be achieved of biomass and oil through the use of different effluents. Also estimating the production of bio-oil using domestic sewage as the source of culture medium for the microalgae using the hydrothermal liquefaction method. Thus, the study analyzed the adaptation, productivity and biomass generation of the microalgae *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina platensis*, to the manure effluent generated by confined dairy farming and the effluent from a fish processing industry. The results showed good adaptation and productivity, demonstrating great potential in the production of biomass and consequently the treatment of these effluents.

Keywords: microalgae, biooil, bioplastic, cattle, manure, fish, wastewater, *Spirulina*, *Scenedesmus*, biomass, hydrothermal liquefaction, HTL, HRAP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do sistema E2 – Energy.	27
Figura 2 – Cultivo de microalgas em lagoas de alta taxa	32
Figura 3 – Fluxograma sintetizado do processo para obtenção do bio-óleo através da liquefação hidrotermal.	42
Figura 4 – Fluxograma do resumo do procedimento experimental realizado.	42
Figura 5 – Pontos de coleta de efluente da fazenda Fazenda Trevisan.....	45
Figura 6 – Cultivo de <i>S. obliquus</i> em efluente de bovinocultura em frasco de vidro.	46
Figura 7 - Aeração por princípio de Venturi.....	47
Figura 8 - Piscina de cultivo com a bomba em funcionamento	47
Figura 9 - Autofloculação realizada em barrilete de 30 l.	49
Figura 10 - Biomassa retida em tecido após filtragem.	49
Figura 11 - Bioplástico produzido por biomassa de <i>S. obliquus</i>	53
Figura 12 - Óleo do primeiro cultivo extraído da biomassa de <i>S. obliquus</i>	53
Figura 13 - Biomassa resultante do cultivo com efluente advindo de indústria de processamento de peixe	55
Figura 14 - Relação C:N:P em esgotos urbanos (a) comparada com a composição de várias biomassas cultivadas com tratamento de esgoto urbano: biomassa de algas de acordo com a fórmula Redfield (b); lodo ativado (c); e <i>G. sulphuraria</i> (d).....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens de microalgas.....	29
Tabela 2 - Caracterização de diferentes esgotos contendo SST (sólidos suspensos totais), DQO (demanda química de oxigênio), DBO5 (demanda biológica de oxigênio), N (nitrogênio), P (fósforo).....	34
Tabela 3 - Comparação entre fontes de biodiesel.....	36
Tabela 4 - Relatório de ensaio do efluente da indústria de processamento de pescados.	50
Tabela 5 - Quantidade de biomassa por litro no final do experimento e os dados de turbidez inicial e final.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

B100 - Biodiesel Puro;

CNN Brasil - Cable News Network Brasil;

FBR – Fotobiorreator;

HRAP - *High Rate Algal Pond*;

HTL - Liquefação Hidrotérmica;

kWh - Quilowatt-hora;

LAT – Lagoas de Alta Taxa;

MPa – Megapascal;

PHA – Polihidroxialcanoato;

PBR - Reator de Leito de Esferas;

pH – potencial hidrogênico;

PHWW - Pós Liquefação Hidrotermal;

sp – espécie;

LISTA DE SÍMBOLOS

g – Grama;

ha - Hectare (10.000 m²);

kWh - Quilowatt-hora;

L – Litro;

m/s - Metro por Segundo;

m² - Metro quadrado;

m³ – Metro cúbico;

mg – Miligrama;

MPa – Megapascal;

NTU - Unidade de Turbidez Nefelométrica;

°C - Grau Celsius;

ppm - Partes por milhão;

rpm – Rotações por minuto;

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	25
1.1 OBJETIVO GERAL	28
2.REFERENCIAL TEÓRICO	29
2.1 VANTAGEM E DESVANTAGEM DO CULTIVO DE MICROALGAS.....	29
2.2 POTENCIAL DE MICROALGAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS RESIDUAIS.....	32
2.3 BIOCOMBUSTÍVEIS	34
2.3.1 Biodiesel	35
2.3.2 Bioetanol	36
2.3.3 Bio-óleo	36
2.4 BIOPLÁSTICO	37
2.5 LAGOA DE ALTA TAXA	38
2.6 MICROALGAS MIXOTRÓFICAS	40
2.7 PROCESSO DE LIQUEFAÇÃO HIDROTERMAL.....	41
2.8 BALANÇO DE MASSA	42
3.MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1 PREPARO DO INÓCULO	43
3.2 EFLUENTES UTILIZADOS E EXPERIMENTOS CONDUZIDOS	44
3.2.1 Cultivo da microalga com efluente de bovinocultura em diferentes diluições com ou sem adição de CO2.	44

3.2.2 Segundo cultivo da microalga com efluente de bovinocultura em piscina de 1000 L sob agitação e aeração.....	46
3.2.3 Terceiro cultivo utilizando a piscina e efluente advindo de indústria de processamento de pescados.....	49
4.RESULTADO E DISCUSSÃO	51
4.1 PRIMEIRO CULTIVO COM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA	51
4.2 CULTIVO DE <i>SCENEDESMUS</i> EM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA EM MAIOR ESCALA	53
4.3 CONSÓRCIO DE <i>SCENEDESMUS</i> E <i>SPIRULINA</i> EM EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE PESCADO.....	54
4.4 CENÁRIOS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM LARGA ESCALA.....	55
4.4.1 Cenário de produção de bioóleo através de liquefação hidrotermal de esgoto doméstico	56
4.4.2 Cenário de produção de biomassa com efluente de bovinocultura	60
4.4.3 Cénario com efluente de indústria de pescados	61
5. CONCLUSÕES	63
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	64
REFERÊNCIAS	65

1. INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas que a humanidade encara no século 21 são problemas com a qualidade da água e o fornecimento de energia (SALAMA et al., 2017). Como Rittmann (2008) expressou:

“A sociedade atual depende fortemente dos combustíveis fósseis como principal fonte de energia. Nossa dependência dos combustíveis fósseis representa três riscos gigantescos para a sobrevivência da sociedade humana, como a conhecemos hoje. O primeiro risco é que vamos esgotar as reservas de combustíveis fósseis, deixando a sociedade humana metaforicamente e talvez literalmente com frio, fome e no escuro. O segundo risco é que a luta geopolítica da competição pela diminuição dos recursos levará a rupturas econômicas e energéticas, tumultos políticos e guerra. O terceiro risco é causado pela mudança climática global causada pelo aumento total de CO₂ na atmosfera devido à combustão de combustíveis fósseis. Embora o portento de catástrofe possa parecer mais imediato em relação aos dois primeiros riscos, é o terceiro risco que terá o impacto mais duradouro e profundo. Felizmente, temos o potencial de reduzir, ou talvez até mesmo eliminar, o terceiro risco, migrando para fontes de energia renováveis, neutras em carbono, que fornecem recursos energéticos que por enquanto são obtidos a partir de combustíveis fósseis”.

O aumento constante da população e da tecnologia, com conseqüente demanda global de energia, a segurança energética e as mudanças climáticas são os principais atrativos da transição para fontes alternativas de energia (KOVACEVIC; WESSELER, 2010). Um fator muito importante para impulsionar essa transição é o aumento das concentrações antropogênicas de gases de efeito estufa que muito provavelmente causaram o aumento das temperaturas médias globais nos últimos 50 anos, estimando que, se as emissões anuais continuarem a aumentar, como aumentaram desde o ano 2000, os modelos do U.S. Climate Science Special Report projetam que, até o final do século, a terra estará 10,2°C mais quente (PACHAURI; MEYER, 2014; U.S. GLOBAL CHANGE RESEARCH PROGRAM, 2018). O dióxido de carbono é o principal gás antropogênico de efeito estufa cuja concentração aumentou de 250 ppm em uma era pré-industrial para 430 ppm em 2011. As expectativas para 2050 e 2100, em sua grande maioria, são de aumento desse número, sendo as piores delas na faixa de mais de 1000 ppm (JARRAUD; STEINER, 2012).

O fato de que a contaminação de águas próprias para consumo torna elas não apropriadas para esse fim é uma preocupação séria nos países em desenvolvimento, onde a saúde humana está em perigo como conseqüência da rápida poluição dos suprimentos de água por metais pesados, eutrofização, poluentes orgânicos persistentes, esgoto e acidificação (CURTIS KM et al., 1997).

Há um interesse crescente em associar tratamentos de efluentes e resíduos biológicos à produção de bioenergia (RITTMANN, 2008). A biomassa das microalgas tem sido descrita por vários autores como a matéria prima com maior potencial para cumprir os objetivos de substituir o diesel de petróleo por biodiesel, sem utilizar o óleo de grãos alimentícios e, por consequência terras aráveis produtivas. Grupos de pesquisa em diferentes países estão buscando o modelo de produção mais apropriado para produtividade, viabilidade econômica e sustentabilidade ambiental (FRANCO et al., 2013).

O cultivo de biomassa de algas para a produção de biocombustíveis de terceira geração (derivados de biomassa) tem recebido atenção crescente nos últimos anos, pois podem ser produzidos no ambiente marinho e em terras não cultiváveis, contornando assim o debate sobre a competição na produção de alimento e combustível. Existem dois tipos de algas: macroalgas e microalgas, sendo as microalgas ideais para produção de óleo devido a sua constituição contendo elevado teor lipídico, em geral. Já as macroalgas são ideais para a produção de bioetanol e polímeros, devido a sua constituição ser favorecida em carboidratos (MURPHY et al., 2013).

Um grande impedimento ao investimento em tecnologias em combustíveis de origem de algas é a suscetibilidade do preço do petróleo a grandes e imprevisíveis flutuações, pois a produção de biodiesel de algas ainda tem um custo alto. Estima-se que o óleo de algas seja financeiramente viável em um cenário com venda de petróleo bruto a um valor maior que U\$100 por barril (CHISTI; YAN, 2011), mas entende-se que a médio e longo prazo as pesquisas venham a baratear a produção do biodiesel de algas e assim criar um cenário competitivo. Atualmente a crise mundial tem levado ao aumento constante do preço do petróleo sendo que alcançou o valor de 83 dólares o barril, com perspectivas de chegar aos 120 dólares em 2022, segundo o Bank of America. A situação no Brasil é mais agravante, visto o aumento da cotação do dólar, fazendo com que em 2021 os combustíveis já tenham tido um aumento de 65 % no diesel e 73% na gasolina nas refinarias, trazendo uma situação de crise em cascata a todo o setor produtivo (CNN Brasil, 17/11/2021).

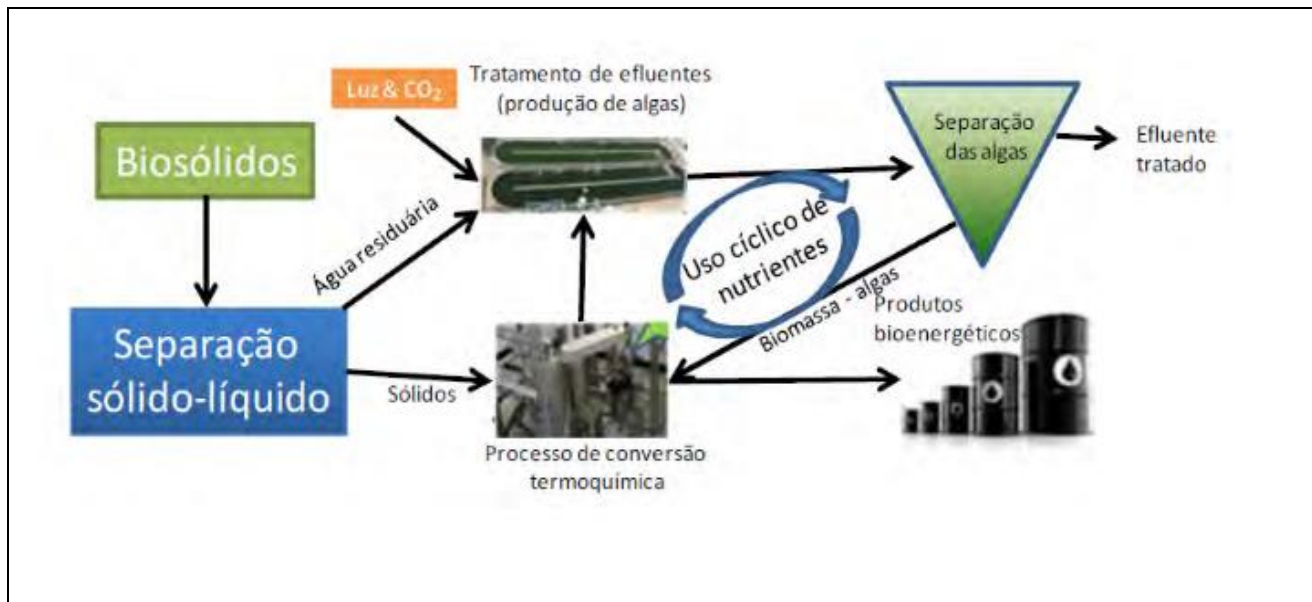
Sistemas de cultivo de algas integrados com biorrefinarias poderiam produzir diversos bioprodutos, tais como biodiesel, gasolina verde, querosene de aviação, além de proteínas isoladas, amidos para alimentação, polímeros têxteis, fertilizantes orgânicos, que poderiam mitigar os custos de produção dos biocombustíveis. O cultivo de algas torna-se um ecossistema de engenharia de ciclo fechado, utilizando a energia, os nutrientes e o CO₂ retidos nos resíduos de materiais residuais para fornecer todos os insumos necessários, e utilizando a luz solar como fonte básica de energia (SHEN, 2014).

A fotossíntese natural ocorre com a absorção da luz solar e sua sucessiva conversão em energia que é armazenada em ligações químicas de moléculas orgânicas que são os blocos de construção para a vida como conhecemos.

Os combustíveis fósseis hoje utilizados, petróleo, gás natural e carvão mineral, são um produto de atividade fotossintética que ocorreu no passado, com energia armazenada nas suas moléculas orgânicas.

Um conceito desenvolvido recentemente e adotado por cientistas em várias partes do mundo, e promulgado pela universidade de Illinois de um paradigma de sistema de produção de energia denominado E²-Energy (do inglês "*Environment-Enhancing Energy*") traduzido como energia de melhora ambiental, pois ele pode simultaneamente melhorar o tratamento convencional de efluentes, capturar carbono e produzir óleo bruto convertendo lixo orgânico, esgoto e outros dejetos em energia (AIERZHATI et al., 2019; CHENG et al., 2019b; SI et al., 2019). Mais ainda, E²-Energy resolve muitos problemas que são geralmente associados com o cultivo em larga escala de algas para produção de biocombustível como: contaminação das culturas de alga ricas em lipídeo, alto custos com nutrientes devido a demanda necessária para o cultivo das algas, uso insustentável de água limpa que poderia ser poupada, e altos custos para secagem e extração. Um esquema desse sistema é demonstrado na figura 1. O resultado combinado da reutilização de nutrientes de ciclos múltiplos e fixação de carbono (por fotossíntese) é o aumento da produção de biomassa, o que se reflete em que na colheita total de biossólidos entre 5,2-10,1 vezes maior do que a entrada original de biossólidos de águas residuais, respectivamente, estimados para um cenário otimista. A amplificação de biossólidos derivados de águas residuárias mostra a medida mais importante do sistema E²-Energy, porque mostra o quanto mais bioenergia pode ser produzida através do conceito de reutilização de nutrientes de múltiplos ciclos (ARPASI, 2016; ZHOU et al., 2013).

Figura 1 – Esquema do sistema E² – Energy.



Fonte: (ZHOU et al., 2013)

As algas são tipicamente produzidas utilizando fotobiorreatores fechados ou tanques abertos em formato de pista com agitação de pás, chamados lagoas de alta taxa (LAT), ou *High Rate Algal Pond* (HRAP), em inglês. Fotobiorreatores (tubos transparentes fechados, bolsas plásticas transparentes ou recipientes similares) são utilizados para produzir alimentos com algas de alto valor suplementos (nutracêuticos) incluindo ômega 3 e pigmentos carotenóides. Entretanto, os altos custos e as limitações de escalonamento de engenharia tornam os fotobiorreatores atualmente não econômicos para geração de biocombustíveis (CRAGGS et al., 2011). Uma solução que se demonstra economicamente viável para a produção de biocombustíveis seria a utilização de LATs, sistemas que foram desenvolvidos nos anos 50 por Oswald e colaboradores (OSWALD; GOLUEKE, 1960).

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho propõe avaliar a viabilidade de produção de biomassa e óleo microalgal utilizando dois diferentes efluentes industriais como meio de cultivo determinando rendimentos em escala de bancada e piloto e extrapolar os cálculos para níveis de produção que poderiam ser atingidos em escala industrial.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 VANTAGEM E DESVANTAGEM DO CULTIVO DE MICROALGAS

Como em qualquer matriz energética, o cultivo de microalgas e a geração de biocombustível através delas possui pontos favoráveis e desfavoráveis que devem ser pesados. Um resumo desses pontos se encontra na tabela 1.

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens de microalgas.

Vantagem	Desvantagem
Possibilidade de absorção direta de CO ₂ advindo de queima.	A colheita da biomassa é um processo que demanda custo e gasto energético.
Nutrientes para cultivo podem advir de águas residuais.	Crescem em meios com maior competitividade por nutriente, devido a presença de outros microrganismos.
Maior produtividade em comparação com vegetais por não serem sazonais.	O fator sombreamento pode ser um empecilho, então demanda agitação e profundidade adequadas, resultando em maior área necessárias e também um gasto energético para garantir a agitação
Não necessitam de terra arável para serem cultivadas.	A separação do óleo é um processo que demanda muita energia, portanto o uso da biomassa como um todo, como no processo de liquefação hidrotermal, aparenta ser mais promissor para o aproveitamento energético do cultivo.
Não requerem uso de pesticidas/herbicidas.	
Podem produzir uma gama maior de combustíveis devido ao seu metabolismo.	

Fonte: autor.

Alguns pontos que corroboram para os biocombustíveis de algas terem vantagens sobre outros tipos de biocombustíveis:

A capacidade de produzirem óleo durante todo o ano, não sendo culturas sazonais, não dependendo de fatores internos limitantes como o metabolismo de vegetais e a estrutura das microalgas sendo unicelular e mais simples e altamente fotossintética permite uma maior produção de óleo por área, logo, a produtividade de óleo é maior em comparação com as culturas vegetais mais eficientes (Griffiths et al., 2011), minimizando os impactos ambientais associados, não competindo por terras cultiváveis. A possibilidade de utilização do ambiente marinho possibilita uma expectativa de produção enorme, visto ser a superfície da Terra em sua maior área encoberta por água.

As algas podem crescer em água salobra de aquíferos salinos ou em água do mar. Apesar de isso significar a não inteira dependência de água doce, outros efeitos colaterais indesejáveis podem surgir como: precipitação de sal nas paredes do biorreator; precipitação nas bombas e válvulas levando a uma redução do ciclo de vida; presença de sais na biomassa final, (GENDY; EL-TEMTAMY, 2013) .

Elas tem o potencial de realizar um ciclo fechado de carbono produzindo biocombustíveis neutros em CO₂ devido ao seu potencial de biofixação de CO₂ (SHEN, 2014). As algas produzem biocombustíveis altamente biodegradáveis mitigando as emissões de CO₂ e NO_x (A.B.M; AISHAH, 2008).

Na produção de microalgas pode-se utilizar diretamente o dióxido de carbono proveniente de gases de combustão, processando as emissões de carbono das usinas termoelétricas, assim como das emissões industriais, processos de queima ou de geração de outros produtos como a fermentação para o etanol (GENDY; EL-TEMTAMY, 2013) e os gases da liquefação hidrotermal.

As macroalgas marinhas têm uma alta taxa de fixação de dióxido de carbono da atmosfera e da água a 8-10 toneladas ha⁻¹ ano⁻¹, comparável aos bosques temperados. Como tal, elas têm um alto potencial para a remediação do dióxido de carbono. As microalgas possuem uma produtividade muito alta, em um sistema de lagoa de alta taxa com alta insolação, agitação, e adição de CO₂ podem chegar facilmente a 60 toneladas ha⁻¹ ano⁻¹ e mesmo sem a adição de CO₂ podem alcançar 30 60 toneladas ha⁻¹ ano⁻¹ (CRAGGS et al., 2011).

Os nutrientes para o cultivo de microalgas (principalmente nitrogênio e fósforo) podem ser obtidos das águas residuais líquidas (esgoto e efluentes); portanto, além de proporcionar

seu ambiente de crescimento, existe o tratamento de efluentes residuais (Figura 2), trocando processos que geram custos por processos com potencial geração de lucro (BENEMANN, 2003).

A composição química das algas as torna adequadas para conversão em biocombustíveis. As algas tem a capacidade de realizar a produção de diversificados biocombustíveis como biodiesel, biometano, bioetanol, querosene de aviação e ainda biohidrogênio (HWANG et al., 2016).

Em geral, as microalgas são fontes potenciais de bio-óleos, enquanto as macroalgas são fontes potenciais de carboidratos para fermentação ou conversões de base termoquímica.

O cultivo de algas não requer o uso de herbicidas ou pesticidas (SAHOO; ELANGBAM; DEVI, 2012).

As algas também podem produzir co-produtos valiosos, como proteína, carboidratos, produtos secundários e biomassa após a extração de óleo que pode ser utilizada como ração animal, medicamentos ou fertilizantes, ou fermentada para produzir etanol ou metano (SAHOO; ELANGBAM; DEVI, 2012). A composição bioquímica da biomassa de algas pode ser modulada por diferentes condições de crescimento, de modo que o rendimento do óleo pode ser significativamente melhorado.

Algumas alegações comuns que mostram as dificuldades no desenvolvimento de biocombustíveis de algas se tornarem comercialmente viáveis são:

Usar gases de combustão traz o benefício de ser uma fonte barata de CO₂, entretanto a qualidade dos gases de combustão e suas concentrações é muito importante devido à presença de compostos tóxicos para a cultura, tais como NO_x e SO_x (HWANG et al., 2016).

Uma dificuldade no cultivo de algas é que as algas fazem sombra umas às outras e, portanto, há diferentes níveis de exposição a luz nas culturas. Isto influencia a taxa de crescimento das algas. Portanto existe um estado ótimo de profundidade, agitação e nível de remoção de nutrientes para uma maior produtividade de biomassa de algas, não permitindo tanques de grande profundidade (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011).

Além disso, espécies selvagens de algas ou outros microrganismos podem invadir e dominar as espécies da cultura de algas, e a produção de óleo pelas algas ser reduzida (GENDY; EL-TEMAMY, 2013).

A colheita das algas em cultura em lagoas ou tanques é tido por ser um processo custoso e a separação do óleo é um processo de alto consumo de energia (CRAGGS et al., 2011). A

temperatura ótima para o cultivo de algas é entre 25 e 30 °C. E o fator temperatura desempenha um papel muito importante na taxa de crescimento, podendo ser um fator limitante, por exemplo, quando acima de mais de 40 °C pode causar a perda da cultura (HWANG et al., 2016).

Figura 2 – Cultivo de microalgas em lagoas de alta taxa



Fonte: (ZHOU et al., 2013)

2.2 POTENCIAL DE MICROALGAS NA BIORREMEDIAÇÃO DE ÁGUAS RESIDUAIS

Os efluentes industriais, assim como o esgoto doméstico, devem ser tratados para que, ao serem lançados no ambiente, não causem alterações no ecossistema. Portanto, devem passar por uma série de etapas de tratamento incluindo tratamento preliminar, tratamento primário, tratamento secundário e tratamento terciário, para que seus contaminantes sejam reduzidos.

Estas águas residuárias contêm sólidos em suspensão e substâncias dissolvidas, tanto inorgânicas como orgânicas. Os compostos orgânicos incluem proteínas e aminoácidos bem como carboidratos e lipídios sob a forma de ácidos graxos. Há também, geralmente, uma carga de nitrogênio e fósforo elevada, além de conter compostos inorgânicos como amônia, sais clorados, fosfatos, potássio e metais pesados em baixa concentração. Estes contaminantes no ambiente, lançados em alta concentração, causam eutrofização dos corpos hídricos, que é justamente o crescimento desordenado de algas, fungos e bactérias, que ao dominarem o

ecossistema de forma descontrolada, consomem os gases dissolvidos como oxigênio e CO₂, causando a morte dos organismos maiores como peixes crustáceos e todos os seres de vida aquática.

Assim, muitas espécies de algas crescem bem nessas águas residuais e, portanto, oferecem potencial de biorremediação quando cultivadas isoladas do meio ambiente natural e de forma controlada.

As algas utilizam os nutrientes na água através de bioabsorção, acumulando-os para promover seu crescimento, incluindo metais pesados. Alguns exemplos são: *Dunaliella salina* que é adaptada a efluente de água hipersalina e pode remover metais pesados tais como Cu, Cd, Co e Zn. *Spirulina sp.* Que pode remover Sb e Cr. *Chlorella* que pode remover Pb(II) de efluentes (BWAPWA; AKASH; TROIS, 2020).

O tratamento de águas residuais com algas pode ser incluído no processo de tratamento convencional como um tratamento secundário para substituir ou complementar o sistema com fornecimento de oxigênio. Isto pode inovar o tratamento de águas residuárias visto que o oxigênio necessário para alimentar os microrganismos seria fornecido por microalgas que enquanto absorvem removendo contaminantes, fornecem oxigênio para os microrganismos ou bactérias. Conseqüentemente, o consumo de energia seria reduzido. O processo de aeração é um processo caro e exigente em termos de energia. É responsável por 45-75% dos custos totais de energia no processo de tratamento de águas residuais (BWAPWA; AKASH; TROIS, 2020). A tabela 2 traz a caracterização de diferentes tipos de esgoto com as concentrações de nitrogênio total, fósforo, sólidos suspensos, demanda biológica de oxigênio e demanda química de oxigênio. Tais efluentes mostram-se ser interessantes para o crescimento de algas pois possuem alta carga orgânica e maior nitrogênio e fósforo (MOLINUEVO-SALCES et al., 2019).

O sistema de lagoas de alta taxa requerem potência para mistura suave, usando cerca de 0,04 a 0,15 kWh_e/kg de O₂ produzido dependendo da estação do ano, insolação e outros fatores, equivalendo a 50-110 kWh_e/ML de águas residuais. Em comparação, o lodo ativado requer de 230 a 960 kWh_e/ML (com base em 0,4 a 1,7 kWh_e/kg O₂). A remoção de nitrogênio por nitrificação-desnitrificação é um processo comum de remoção de nutrientes, mas é caro e requer energia adicional de em torno de 400-1000 kWh_e/ML de águas residuais com 30 g N/m³. HRAPs com adição de CO₂ poderiam proporcionar uma remoção de nutrientes de nível terciário com eficiência energética por pouco custo adicional de energia.

A biomassa de algas pode apresentar proporções de N:P variando de 4:1 a 40:1 e, portanto, a assimilação quase completa de N e P em biomassa de algas em águas residuais é

teoricamente possível (CRAGGS et al., 2011). O efluente advindo de bovinocultura contém altíssima DQO, nitrogênio, e fósforo e é considerado como sendo um dos mais poluentes (LV et al., 2016; MAGRO et al., 2021). O efluente advindo da indústria de processamento de peixes possui alta quantidade de carbono total, nitrogênio amoniacal, nitratos e fósforo, os quais podem levar a eutrofização de corpos de água se não forem tratados a priori. Portanto, o cultivo de microalgas nesses efluentes tem alto potencial, não apenas pelo aspecto ambiental de biorremediação de efluentes, mas também pela sustentabilidade econômica de tais práticas, já que essas utilizariam os nutrientes na fração solúvel do efluente para gerar biomassa, bioóleo e produtos secundários de grande interesse econômico (GARCÍA-MARTÍNEZ et al., 2019).

O efluente da indústria de pescado possui uma alta carga orgânica e de nutrientes e em um experimento conduzido por GARCÍA-MARTÍNEZ et al. (2019) provou-se que com o uso desse efluente é possível a cultura de microalgas como *S. obliquus* e *C. vulgaris* para a produção de carotenoides, ficobiliproteínas, e outros metabólitos de interesse.

Tabela 2 - Caracterização de diferentes esgotos contendo SST (sólidos suspensos totais), DQO (demanda química de oxigênio), DBO5 (demanda biológica de oxigênio), N (nitrogênio), P (fósforo).

Tipo de efluente	SST (mg/L)	DQO (mg/L)	DBO5 (mg/L)	N (mg/L)	P (mg/L)
Municipal	100-350	250-1000	100-400	85-20	4--15
Processamento de Peixe	200-3000	500-4500	400-4000	1--20	5--90
Esgoto de Matadouro	200-5000	750-35000	500-5350	48-750	10--90
Estrume de Porco	46000-76000	52000-73900	3500-61000	3500-5400	3200-6200

Fonte: adaptado de (MOLINUEVO-SALCES et al., 2019)

2.3 BIOCOMBUSTÍVEIS

A fotossíntese é um processo bem-sucedido de armazenamento e geração de energia, valendo-se de que a matéria prima e potência necessárias para síntese da biomassa estão disponíveis de forma quase ilimitada (sol, CO₂ e água). Resumidamente, neste processo ocorre a lise de uma molécula de água em equivalentes de oxigênio e hidrogênio. O oxigênio é liberado na atmosfera para poder ser usado por organismos vivos e processos de combustão, que são explorados por nós. Os equivalentes de hidrogênio são utilizados para reduzir CO₂ em

principalmente carboidratos e lipídeos. Quando combustíveis fósseis, biomassa e outros biocombustíveis são queimados para liberar energia, o hidrogênio presente nessas moléculas orgânicas simplesmente se combina com oxigênio atmosférico para formar água. Portanto, no mundo biológico, a fotossíntese trata-se da lise de água em oxigênio e hidrogênio para o armazenamento de energia solar na forma de ligações químicas (SHEN, 2014). Essa biomassa e óleo gerados são então explorados para produção de diferentes biocombustíveis.

2.3.1 Biodiesel

O biodiesel refere-se a qualquer biocombustível equivalente ao diesel e obtido a partir de materiais biológicos renováveis, tais como óleos vegetais ou gorduras animais, e consiste em hidrocarbonetos saturados de cadeia longa. Pode ser usado na forma pura (B100) ou pode ser misturado ao diesel em qualquer concentração (ANTUNES; SILVA, 2010). As matérias-primas geralmente utilizadas para a sua produção são soja, palma, milho e canola e são denominadas matérias-primas de primeira geração, por como o nome indica foram as primeiras a serem utilizadas para a produção de biodiesel. Uma ressalva importante é que estas culturas têm uma produtividade de óleo muito menor por área como é indicada na tabela 3, e com esse rendimento inferior precisam de uma grande extensão de área arável para produção de combustível.

A produção de biodiesel a partir de óleos extraídos de algas cultivadas em LATs foi o principal foco de pesquisa de 30 anos do Departamento de Energia das Espécies Aquáticas dos Estados Unidos. O programa concluiu que em climas adequados, as algas têm maior produção de óleo do que a maioria das plantas de cultivo terrestre devido a sua alta produtividade, com entre 50 e 100 toneladas de matéria seca/ha.ano de algas e um teor de óleo (como triglicérides) de 25 a 50%, sendo a faixa mais baixa o que se pensa ser atualmente viável e os valores mais altos projetando o que se pensa ser possível no futuro aplicando as modernas ferramentas da biologia molecular ao cultivo em massa de microalgas. O conteúdo e a qualidade do óleo de algas varia entre espécies e até mesmo entre cepas dentro de uma espécie, e com condições ambientais, tais como limitação de nitrogênio, muitas vezes aumentando muito o conteúdo de óleo (CUÉLLAR-GARCÍA et al., 2019).

Um fator importante a ser considerado é como deve-se extrair o óleo das algas. Caso a secagem da biomassa for necessária, isto aumentará significativamente os custos totais, mesmo para a secagem ao sol (o único método plausível). No caso da biomassa de algas cultivadas em águas residuais, a maximização do teor de óleo e do rendimento não seriam uma prioridade, e, por enquanto, um rendimento de 0,12 L de biodiesel/kg de biomassa de algas seria uma meta razoável a curto prazo para tais águas residuais destinadas a produção de biomassa de algas (CRAGGS et al., 2011).

Tabela 3 - Comparação entre fontes de biodiesel.

Cultura	Produção de óleo (L/ha)*	Área cultivável necessária (Mha) ^a
Milho	172	1540
Soja	446	594
Colza	1190	223
Coco	2689	99
Óleo de palma	5950	45
Microalgas (70% óleo/peso seco)	136900	2
Microalgas (30% óleo/peso seco)	58700	4.5

*valor de referência para cumprir 50% das necessidades energéticas dos transportes nos Estados Unidos.

Fonte: (ANTUNES; SILVA, 2010)

2.3.2 Bioetanol

Etanol pode ser obtido de algas através do processo de sacarificação do amido e celulose presente em sua biomassa. Neste processo os carboidratos são fermentados por leveduras e em seguida o álcool é destilado para separá-lo dos outros produtos de fermentação. No entanto a porção de carboidratos em algas é cerca de 20% em matéria seca e a fração deste que pode ser convertida para etanol é apenas metade a dois-terços ou em torno de 13% do peso total da massa seca, o que comparado com outras culturas como o milho (65% da massa seca) é significativamente baixa (CRAGGS et al., 2011).

2.3.3 Bio-óleo

A liquefação hidrotermal (HTL) é uma nova tecnologia que utiliza um reator de água supercrítico para a conversão de biomassa de algas em biocombustível, valendo-se da técnica de pirólise, que imita processos que podem ter produzido o petróleo utilizando calor intenso (~374°C) e pressão (~22.1 MPa) para dissociar água e degradar compostos orgânicos. Essa conversão tem vantagens similares à digestão anaeróbica, pois a biomassa de algas não precisa ser seca e a conversão é de toda a biomassa das algas e não apenas da fração dos carboidratos. Estima-se que secar a biomassa de algas para processos de extração convencionais utilizados para extração de óleo de sementes oleaginosas consome mais do que 90% do conteúdo energético do óleo de algas (ZHOU et al., 2013). A HTL é especialmente adequada para a conversão de matérias primas úmidas como algas, uma vez que a alimentação para a unidade de conversão é o lodo aquoso. Assim, nenhuma energia é gasta para métodos de secagem por meio de evaporação das algas (BIDDY et al., 2013). Logo a liquefação hidrotermal representa

uma alternativa mais economicamente viável por não necessitar de um processo de secagem e/ou extração, sendo utilizado a biomassa algal bacteriana úmida para a produção do óleo.

Além do óleo bruto produzido nesse processo (ou biogás se for utilizado um catalisador), um efluente pós liquefação hidrotermal (PHWW) com elevada carga de compostos orgânicos além de nitrogênio e fósforo é liberado (BIDDY et al., 2013). Por esta razão o PHWW deve ser tratado antes de ser liberado ao ambiente. Pode-se aproveitar os nutrientes e matéria orgânica para gerar novos ciclos de microrganismos, no entanto, o efluente também contém compostos tóxicos como compostos nitrogenados cíclicos que prejudicariam o crescimento dos mesmos (ARPASI, 2016). Para o tratamento de PHWW processos oxidativos avançados ou a combinação da oxidação por peróxido de hidrogênio com a digestão anaeróbia são alternativas promissoras (ARPASI, 2016). No entanto Zhou et al. (2013) também mostraram que os compostos tóxicos e inibidores no PHWW não seriam provavelmente um problema em aplicações reais no tratamento de águas residuárias municipais. Com a porcentagem de PHWW fluindo no processo de cultivo de algas em estado estacionário sendo de apenas 0,48% e 0,90% em um cenário de base e cenário melhorado, respectivamente. Este nível de PHWW demonstrou promover o crescimento robusto da biomassa mista de algas e bactérias nos testes. Também obtendo sucesso em um PBR contínuo alimentado por 1% de PHWW-Spirulina por mais de seis meses e esta condição operacional não exerceu qualquer efeito negativo óbvio sobre o crescimento de algas. Portanto, a necessidade de diluição não impõe uma demanda adicional de água e pode ser acomodada de forma econômica em escala real (ZHOU et al., 2013).

O reator hidrotermal produz um bio-óleo "bruto" comparável ao petróleo do qual uma gama de produtos combustíveis pode ser produzida através de refinamento, tal como gasolina e querosene para aviação. Um rendimento médio de 0,4-0,5 L de bio-óleo/kg de biomassa de algas pode ser alcançável (CRAGGS et al., 2011).

Enquanto os compostos contendo N e os de alto peso molecular são uma preocupação com o refinamento de bio-óleo bruto a partir da biomassa de algas com alto teor de proteína, a remoção de carboidratos ao invés de remover as proteínas como um pré-tratamento para HTL é recomendada, uma vez que os compostos derivados de carboidratos são mais propensos a criar heterocompostos altamente aromáticos que são muito mais difíceis de refinar (CHENG et al., 2017).

2.4 BIOPLÁSTICO

O plástico derivado de petróleo, o maior constituinte de plástico no mundo, possui diversas vantagens de produção e tecnologias consolidadas para sua fabricação. O fato de ser

um material forte, de baixo peso, resistente a degradação por água, químicos, sol, e principalmente à ação de microrganismos, além de sua capacidade de ser um bom isolante térmico e elétrico o tornaram facilmente adotado, no entanto essa adoção vem com um preço ambiental e conseqüentemente econômico. O fato de o petróleo ser o precursor para a produção de plástico e o fato de ser um nutriente esgotável impõe um alerta para a falta de viabilidade de continuação de exploração desse recurso para a produção de plástico. Dentre os inúmeros prejuízos ambientais a geração de resíduos que levam a contaminação do ar, água e solo em diferentes formas podem ser mencionados (ZELLER et al., 2013).

Uma solução para o problema é reciclar plásticos, no entanto há uma demanda energética necessária para realizar essa tarefa. Uma solução para o problema ambiental gerado pelo plástico advindo de petróleo é a sua substituição por bioplástico, um produto biodegradável. Bioplástico pode ser produzido da fração de carboidratos da biomassa de algas e de plantas ricas em amido. Também pode ser produzido da fração proteica através de processamento termomecânico (ZELLER et al., 2013). Microalgas podem ser utilizadas como *fillers* para matrizes compostas de plástico ou produzirem polímeros utilizados para fazer compostos plásticos, como por exemplo PVC-Chlorella, PLA-alga, PE- Chlorella, PBS-Spirulina, etc. (DIANURSANTI; GOZAN; NOVIASARI, 2018).

O interesse econômico para a produção de bioplásticos e polissacarídeos é que esses estariam avaliados em mais de \$1.000/tonelada, comparado a menos de \$100/tonelada para biocombustíveis produzidos por biomassa algal (BENEMANN, 2003).

2.5 LAGOA DE ALTA TAXA

Lagoa de alta taxa são tanques em formato de pista com profundidades que variam entre 0,2-1 m. Sendo movimentados geralmente por uma roda de pás fornecendo uma velocidade média horizontal da água de 0,15-0,3 m/s. As pistas podem estar dispostas como um ciclo único ou múltiplos divididos por paredes. O fundo pode ser forrado ou não dependendo das condições de solo e regulamentações locais. O CO₂ pode ser adicionado contracorrente em fossas de borbulhamento de 1,5 m de profundidade para criar um fluxo turbulento e assim garantir a condição de agitação necessária para promover que não haja zonas de sombreamento, mas que as algas possam receber radiação solar de forma mais distribuída. (PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011).

Uma grande desvantagem do tratamento de águas residuais por lagoas de alta taxa é a necessidade relativamente alta de área para o circuito em comparação com os sistemas de tratamento eletromecânico (por exemplo, lodo ativado), no entanto, HRAP seria menor do que

os sistemas convencionais facultativos de lagoas de águas residuais. O potencial de produção de biomassa de algas a partir do HRAP de águas residuárias é limitado pela insolação e temperatura diárias e, portanto, a área necessária para o tratamento efetivo de águas residuárias durante todo o ano aumenta com o aumento da latitude (CRAGGS et al., 2011).

A produção de algas nessas lagoas é severamente limitada devido à baixa relação C:N de águas residuais (tipicamente 1:0,5 para esgoto doméstico) em comparação com a biomassa de algas, que pode variar de cerca de 1:0,1 a 1:0,2, dependendo, respectivamente, se N é limitante ou não, o que significa que em uma quantidade baixa a sua falta no meio limitaria o crescimento da microalga. O nitrogênio e fósforo sendo importantes para diversas funções no metabolismo da microalga e constituintes importantes nas macromoléculas de DNA, RNA e proteínas, a sua falta ocasionaria uma pausa metabólica e futura morte da cultura caso não estejam em níveis suficientes. As águas residuárias domésticas contêm carbono insuficiente para remover todo o nitrogênio por assimilação na biomassa das algas. A limitação de carbono no tratamento de águas –residuais HRAPs é indicada pelo pH elevado da água da lagoa durante o dia, resultante do uso de íons bicarbonato como fonte de CO₂ para fotossíntese de algas, liberando íons hidróxidos que podem aumentar o pH da água da lagoa para > 10 (CRAGGS et al., 2011). No entanto, efluentes industriais e os advindo de atividade pecuária possuem altíssima carga orgânica, os tornando não só altamente poluentes, mas também, nesse caso, uma excelente fonte de nutrientes para o crescimento de microalgas (EROGLU; SMITH; RASTON, 2015; GARCÍA-MARTÍNEZ et al., 2019; ZELLER et al., 2013).

Em pH > 8,5 o crescimento de algas e das bactérias aeróbias heterotróficas (que degradam os compostos orgânicos das águas residuais) é cada vez mais inibido, em parte como resultado das altas concentrações de amônia livre. A adição de CO₂ ao tratamento de águas residuárias HRAPs aumentaria, portanto, a produção de algas e a remoção de nutrientes nitrogenados, estimulando o crescimento de algas. Devido à grande variação, quase dez vezes maior, na relação N:P possível com microalgas, a remoção de N é a questão chave no tratamento de nível terciário de HRAP (remoção de nutrientes), já que a remoção eficiente de P geralmente não requer produção adicional de biomassa de algas acima da necessária para a assimilação de N. Há poucas informações publicadas sobre a adição de CO₂ ao tratamento de águas residuais HRAPs, entretanto, a adição de CO₂ tem demonstrado mais do que o dobro da produtividade das culturas de algas (CRAGGS et al., 2011).

O fato de haver maior incidência solar nas lagoas de alta taxa beneficia o crescimento de microalgas. Há muitos relatos sobre o efeito de iluminação contínuo de 24 h por dia no crescimento e na produtividade da biomassa de algas. Especificamente, um estudo sobre

Botryococcus braunii KMITL 2 mostrou que iluminação contínua de 24 h por dia aumentou a concentração de biomassa para quase quatro vezes quando comparado com o fotoperíodo de 12:12. Nesse estudo, uma maior duração de luz aumentou a taxa de crescimento específico e a concentração de biomassa das algas (RUANGSOMBOON, 2012). E um estudo conduzido sob essa mesma condição utilizando as culturas em consórcio de *Chlorella variabilis* e *Scenedesmus obliquus* também obtiveram êxito (GATAMANENI LOGANATHAN et al., 2020).

2.6 MICROALGAS MIXOTRÓFICAS

Microalgas mixotróficas são organismos que possuem capacidade tanto de realizar fotossíntese quanto de consumir o carbono orgânico dissolvido no meio aquoso. Essas mostram vantagens significativas para tratar efluentes com considerável carga orgânica e também para gerar biomassa através do processo fotossintético. *Scenedesmus obliquus* é uma microalga mixotrófica, tem uma taxa de produtividade de biomassa alta e se adapta perfeitamente a efluentes com alta carga orgânica como no caso do efluente de bovinocultura e esgoto doméstico (SALAMA et al., 2017). Esta microalga ao ser utilizada para crescer em esgoto passado por tratamento secundário foi capaz de remover até 99% de nitrogênio e 98% de fósforo e com uma produtividade de 0.12 g/L e conteúdo lipídico de 33% (XIN; HONG-YING; JIA, 2010). Em um estudo por Mandal e Mallick (2009) onde dosaram a quantidade de nitrogênio, fósforo e glicose disponível para *S. obliquus*, conseguiram alcançar 2.16 g l⁻¹ de lipídios, sendo obtido uma geração de lipídeos de 61,3%, e 0.98 - 4.32 g/L de biomassa controlando a variável de concentração de glicose Sua composição lipídica contendo palmitato e oleato fazem da biomassa de *S. obliquus* matéria prima ideal para produção de biodiesel (MANDAL; MALLICK, 2009). Outra microalga com muita pesquisa consolidada e utilizada para geração de biocombustíveis é *Spirulina platensis*, altamente estudada para liquefação hidrotermal por ter um perfil lipídico alto e facilmente se adaptar a efluentes com alta carga orgânica (ARPASI, 2016; JONES et al., 2014; KAZEMI SHARIAT PANAHI et al., 2019), *Spirulina platensis* também possui um alto teor proteico (50-70%) sendo ideal para diversas finalidade como ser utilizada para alimentação, formação e adição a bioplásticos entre outras, sua adaptação a diferentes habitats também a torna uma forte candidata para a produção de biomassa com baixo custo, pois esta se adapta facilmente a água salobra, água doce e até mesmo a água do mar (DIANURSANTI; GOZAN; NOVIASARI, 2018).

Uma microalga mixotrófica encontrada no Brasil no Estado da Bahia, *Botryococcus terribilis*, demonstrou ser uma espécie de algas promissora para o tratamento de águas residuais devido a sua flexibilidade metabólica na utilização de carbono orgânico dissolvido e nutrientes

em águas residuais, bem como a utilização de CO₂ na realização de fotossíntese (CABANELAS et al., 2013). Uma batelada destinada a HTL em tratamento de águas residuárias com *Galdieria sulphuraria*, um microrganismo também mixotrófico que possui um alto valor proteico como *B. terribilis*, mostrou que a mesma tem potencial para produzir biocombustível derivado de algas desde que temperaturas de 330-350 °C e tempos de reação intermediários (~30 min.) sejam utilizados para a quebra dos teores mais altos de proteínas (~45% do peso) e carboidratos (CHENG et al., 2019a).

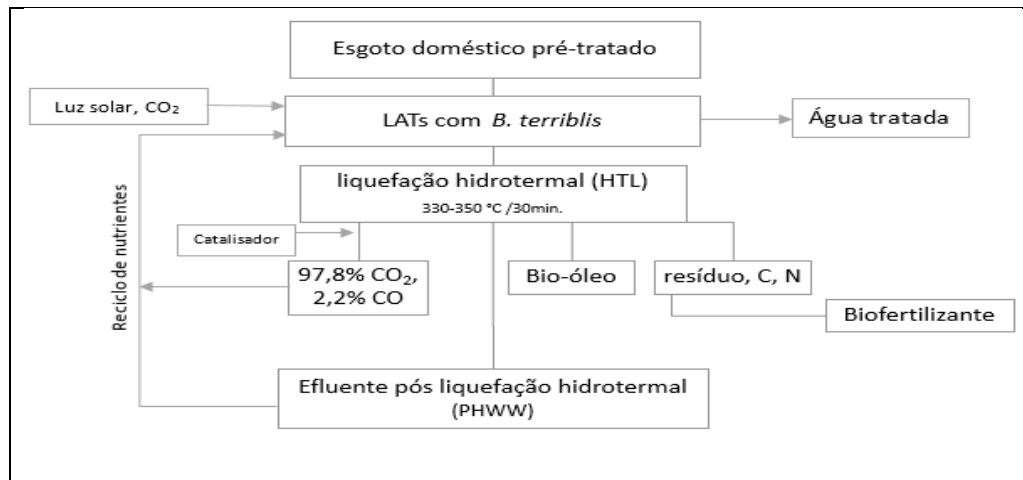
Deduz-se que esse método certamente seria muito eficaz em transformar a biomassa de *S. obliquus* em bioóleo com alto teor energético já que seu valor de lipídios é superior que o da *B. terribilis* que é em torno de 25% e o valor proteico em torno de 67% do peso seco da biomassa (CABANELAS et al., 2013). Esses valores encontrados na literatura podem variar bastante dependendo de muitos fatores como condições ambientais, disponibilidade de nitrogênio e outros nutrientes no meio e competitividade que pode existir pelo mesmo substrato. NASCIMENTO et al. (2013) reportou um perfil total de lipídios de 49% de peso seco para *B. terribilis* mostrando que esses valores podem ter alta variação. Para este trabalho selecionaremos o perfil de lipídios, proteínas e carboidratos do estudo de CABANELAS et al. (2013) por ter simulado uma situação de tratamento de águas residuais usando um microrganismo mixotrófico, conforme a direção que esse trabalho aponta.

2.7 PROCESSO DE LIQUEFAÇÃO HIDROTÉRMAL

No processo de liquefação hidrotermal, o efluente é previamente gradeado para tirar sólidos insolúveis que não seriam alvos de tratamento e então o efluente iria para uma lagoa de alta taxa contendo inóculo suficiente de microalgas. Com a ingestão de dióxido de carbono advindo do processo industrial o efluente e a biomassa ficam sendo circulado na lagoa por dez dias através de um sistema de rodas de pá alimentado por energia solar. Após é então submetido a um processo de floculação e então a água tratada é descartada e a biomassa seria então direcionada para o reator HTL onde seria submetida a uma temperatura de 330-350° C por 30 minutos para a sua conversão em bio-óleo. As cinzas resultantes desse processo seriam destinadas a biofertilizantes, os gases devolvidos a lagoa, assim como um efluente pós HTL rico em moléculas nitrogenadas. O bio-óleo seria então armazenado, caracterizado e destinado para os processos subsequentes de craqueamento.

A figura 3 mostra um fluxograma de um sítio de produção de biocombustíveis e tratamento de água. Utilizando água residual para servir de alimentação de nutrientes e água, juntamente com o redirecionamento dos gases emitidos pela caldeira para fornecer o CO₂ necessário para o crescimento das algas.

Figura 3 – Fluxograma sintetizado do processo para obtenção do bio-óleo através da liquefação hidrotermal.



Fonte: autor

2.8 BALANÇO DE MASSA

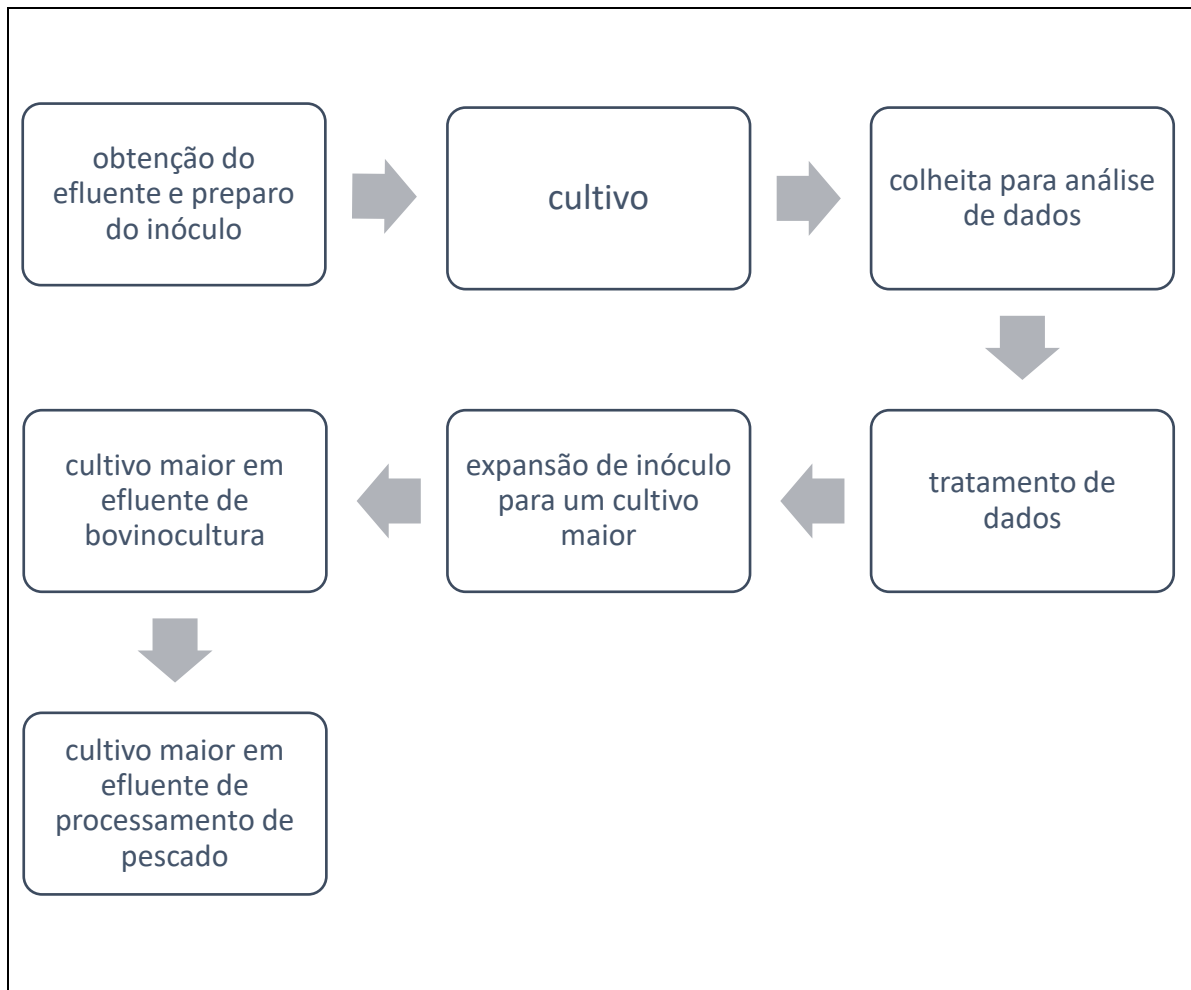
De acordo com a proposta feita pelo Departamento de Energia dos Estados Unidos, que quantificou um alvo que 30% do combustível dos EUA sendo renovável até 2030, o que corresponde a em torno de 227 bilhões de litros por ano (tabela 3), podemos utilizar esses dados como base para montar um balanço de massa para quantificar a quantidade de insumos e de produção de biocombustível que um sítio de produção de algas poderia produzir.

Neste trabalho conceitualizamos um cenário onde os insumos são esgoto doméstico e efluentes contendo os nutrientes necessários para gerar biomassa, luz do sol como fonte de energia para alimentar as algas e o CO₂ é redirecionado de uma caldeira utilizada para a liquefação hidrotermal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Cada etapa dos procedimentos realizados fora dividida em tópicos e a evolução das etapas dos experimentos conduzidos estão contidas no fluxograma da figura 4.

Figura 4 – Fluxograma do resumo do procedimento experimental realizado.



Fonte: autor

3.1 PREPARO DO INÓCULO

A microalga *Scenedesmus obliquus* foi obtida a partir de amostras do laboratório de microalgas da UFRGS dirigido pelo professor Marcelo Farenzena através da professora Fernanda Borges. *Spirulina platensis* foi obtida do laboratório da professora Ligia Marczak da UFRGS, através da professora Débora Jaeschke. Estas cepas não tem registro no Sisgen, sendo compartilhadas sem restrições.

As culturas de reserva foram mantidas em frascos Erlenmeyer contendo meio de cultura a $22\pm 2^\circ\text{C}$ sob iluminação contínua.

Os frascos foram agitados em uma mesa agitadora SL-180/DT da marca SOLAB a 60 rpm. O meio *Bold Basal medium* (BBM) modificado foi utilizado para crescer as algas até atingirem um nível de crescimento significativo para iniciar os experimentos.

A composição do meio foi: KH_2PO_4 a 10 ml/L, e a 1 ml/L: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaNO_3 , K_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. E H_3BO_3 0.7 mL, biotina 0.001 mg/l, tiamina a 0,2 mg/L.

O meio foi autoclavado a 120 °C, 1 atm por 20 minutos. A vidraria para cultura e para as etapas de subcultivo foram higienizadas e desinfetadas com a utilização de álcool 70%. Fora adicionado ao cultivo ar atmosférico bombeado de forma constante por uma bomba de aquário sendo borbulhado em um Erlenmeyer contendo uma solução de iodo para desinfecção do ar de possíveis agentes contaminantes. Os cultivos foram mantidos em ambiente não climatizado sujeito a variações de temperatura.

3.2 EFLUENTES UTILIZADOS E EXPERIMENTOS CONDUZIDOS

3.2.1 Cultivo da microalga com efluente de bovinocultura em diferentes diluições sob adição e não adição de CO_2 .

O cultivo inicial da microalga *S. obliquus* fora realizado em escala laboratorial no laboratório da UERGS de Bento Gonçalves. Para o primeiro cultivo e etapas de multiplicação do inóculo coletou-se 4 frascos de 900 ml de efluente de bovinocultura da fazenda Trevisan. Estes foram coletados de diferentes pontos (ver imagem 5) para realizar os testes de adaptação. Retirou-se dos pontos: do equalizador onde os dejetos estão no estado menos processado antes de passarem pelos biodigestores, na saída do biodigestor 1, na saída do biodigestor 3 e na lagoa de aeração. O relatório com parâmetros físico-químicos realizado pela empresa EcoCerta apontou o DBO de saída do biodigestor 3 ainda no valor de 32.498 mg/L. E na saída da lagoa aerada ainda se encontra um DQO médio de 13.749,2 mg/L.

Figura 5 – Pontos de coleta de efluente da fazenda Fazenda Trevisan.



Fonte: autor Legenda: Biodigestor 1 (1), Biodigestor 2 (2), Biodigestor 3 (3), Lagoa aerada (l.a.).

As amostras foram levadas ao laboratório da UERGS de Bento Gonçalves e todos os frascos foram congelados exceto a do biodigestor 3. Foi então realizado o tratamento de floculação físico-química do efluente utilizando sulfato de alumínio e polímero para a remoção de sólidos suspensos. Logo após a coagulação, o fluído foi filtrado a vácuo e separado para o primeiro cultivo.

O experimento foi delineado em blocos casualizados sendo 3 proporções diferentes do efluente do biodigestor 3. As diferentes proporções visaram avaliar qual diluição teria o possível melhor desempenho para futura ampliação do cultivo.

Ao total, uma vela 7 dias foi utilizada para a queima e geração do CO₂ por um período de cinco dias. O primeiro cultivo durou um período de duas semanas.

As diferentes concentrações foram colocadas em Erlenmeyer de 250 ml sendo elas sem diluição (puro efluente), com diluição em água de 50% e com diluição de 25% em água. Fora utilizado 20 ml de inóculo de *S. obliquus* ainda contendo meio de cultivo com uma turbidez em 920 NTU medida através do turbidímetro DLT – WV da Del Lab. Os dados então foram anotados e analisados no Excel através do teste t para avaliar a presença de diferença significativa.

Também se submeteu a um tratamento com injeção de CO₂ de forma contínua através da queima de uma vela e a captura da mistura do gás de queima dessa com o ar atmosférico através de uma bomba de aquário inserida dentro de um receptáculo de vidro com tampa semiaberta.

As amostras produzidas no primeiro cultivo foram então reunidas formando um volume maior de inóculo. Para um segundo experimento foi então realizado o processo de floculação do

efluente do biodigestor 1 e o efluente bruto, removendo os sólidos suspensos e o líquido filtrado foi utilizado para alimentar o cultivo ampliado em um frasco com um volume total de cultura de 2 L, sendo 1 litro de água, 300 ml de inóculo e 700 ml de efluente, como o apresentado na figura 6.

Figura 6 – Cultivo de *S. obliquus* em efluente de bovinocultura em frasco de vidro.



Fonte: autor

Obtido resultado satisfatório no cultivo em 2 litros, reproduzindo o que ocorreu no Erlenmeyer, o produto desse cultivo ampliado foi utilizado como inóculo para um terceiro experimento ampliando a escala em um vidro com 10 litros de meio. Nesta etapa fora deixado o cultivo no ambiente externo, agitado por uma bomba e aerado por compressor de aquário. Assim o fotoperíodo deste experimento foi o de iluminação natural. Foram feitas medidas de pH e turbidez acompanhando o crescimento da biomassa.

Um quarto experimento também em escala de 2 litros, resultou em uma concentração muito alta de biomassa que levou a formação de um polissacarídeo. Este foi utilizado para produzir bioplástico utilizando a proporção de 30% glicerol para 70% de biomassa, segundo DIANURSANTI et al. (2018) deixando-o sem agitação a uma temperatura de 4°C por 24 horas para então ser moldado em formas de silicone e colocado na estufa para perder a umidade.

3.2.2 Segundo cultivo da microalga com efluente de bovinocultura em piscina de 1000 L sob agitação e aeração.

Visando realizar um experimento em escala real, utilizou-se uma piscina plástica de 1000 litros como biorreator. Para manutenção de agitação e aeração montou-se um sistema

utilizando-se uma bomba centrífuga Syllent Mb53e0115 de ½ cv e tubos de pvc para montar um sistema de aeração por princípio de Venturi (ver figura 8). Uma ilustração similar do que ocorre na ejeção é mostrada na figura 7. A piscina foi posicionada no pátio da unidade, de maneira que recebesse o máximo possível de luz solar direta pela manhã e pela tarde, ficando o período de 13 a 15 h encoberta pela sombra do prédio.

Para o cultivo na piscina fora feita uma segunda coleta de efluente na fazenda Trevisan, desta vez com 2 bombonas de 20 litros. Como verificou-se que as algas eram capazes de utilizar o efluente bruto, foram coletados 40 litros de efluente do equalizador. Utilizou-se uma piscina da marca MOR de 1000 litros para esta ampliação, à piscina foi adicionado 300 litros de água que foi deixada ao ar livre por dois dias para que o cloro evaporasse. Adicionou-se 40 litros de efluente tratado por floculação e filtração, e em torno de 15 litros de inóculo, obtido do somatório dos experimentos anteriores, como o efluente muito concentrado não permitia um tratamento físico químico adequado, as amostras tiveram que ser diluídas, adicionando água ao sistema, obtendo-se assim um volume total de 500 litros e o pH iniciou na faixa de neutralidade entre 6,8-7,1. O cultivo foi realizado por 18 dias, seguido de floculação e filtração da biomassa gerada.

Figura 7 - Aeração por princípio de Venturi



Fonte: CASA DA HORTA

Figura 8 - Piscina de cultivo com a bomba em funcionamento



Fonte: autor

Foram coletadas amostras de 100 ml sem periodicidade definida ao longo do experimento para serem secas em estufa para estimar a quantidade de biomassa e o seu desenvolvimento.

O cultivo na piscina durou o total de 18 dias. A biomassa foi coletada utilizando o método da autofloculação descrito por LAVOIE; DE LA NOÛE (1987) com o aumento do pH para em torno de 12 fazendo com que as algas se aglutinassem e assim facilitassem o processo de captura da sua biomassa

Fora utilizado NaOH 1M para aumentar o pH e adição de polímero coagulante, determinando a concentração ideal através de jarr teste em bancada (ver figura 9 mostrando o aglutinado autofloculado de biomassa). A filtragem dos flocos de microalga aglutinados foi realizada através de tecido (ver figura 10). Diferentes tecidos foram testados, como algodão 100%, poliéster 70% e tecido de *voil* sendo o melhor resultado o tecido de *voil* para o quesito velocidade de filtração, a retenção provou-se excelente quando a biomassa estava floculada em flocos maiores através da adição de polímero.

Com a biomassa coletada fora realizado o processo de extração de lipídeos, similar ao executado por BONI et al. (2018) através do método de extração por soxhlet utilizando o hexano como solvente.

Figura 9 - Autofloculação realizada em barrilete de 30 l.



Fonte: Autor (2021)

Figura 10 - Biomassa retida em tecido após filtragem.



Fonte: Autor (2021)

A biomassa foi então pesada úmida, então seca em estufa e pesada e destinada à extração de lipídeos, assim como realizado por BONI et al. (2018) através de extração por soxhlet utilizando hexano para a extração do óleo.

3.2.3 Terceiro cultivo utilizando a piscina e efluente advindo de indústria de processamento de pescados.

Para um segundo cultivo na piscina fora alimentado com 40 litros de efluente bruto advindo de indústria de processamento de pescados de Garibaldi, que possui um volume diário

de efluente gerado máximo de 28.700 litros. Esse efluente utilizado é ainda no estado bruto, ou seja, sem tratamento físico-químico. A tabela 4 traz o DBO, DQO, fósforo total, nitrogênio total, entre outros dados do efluente utilizado.

Tabela 4 - Relatório de ensaio do efluente da indústria de processamento de pescados.

Parâmetros Realizados no Centro de Análises Ambientais	Resultados Analíticos	Unidade	Método Analítico	LQ/Faixa
Fósforo Total	20,7	mg/L	SMWW 3120 B 23ª Ed	0,010
DQO	2185	mg/L	SMWW 5220 D 23ª Ed	5,00
Nitrogênio Amoniacal	58,1	mg/L	SMWW 4500-NH3 B e C 23ª Ed	2,0
Nitrogênio Total Kjeldahl	132	mg/L	SMWW 4500-Norg B e D 23ª Ed	3,0
Óleos e Graxas Animais e Vegetais	160	mg/L	SMEWW 23ª ed. 2017 - Método 5520 A e C e EPA - Method 1664: Rev. B	6
DBO	727	mg/L	SMWW 5210 D 23ª Ed	2,0
pH	7,65	-	SMWW 4500-H+ 23ª Ed	2,0 - 12,0
Sólidos suspensos totais	353	mg/L	SMWW 2540 D 23ª Ed	5,0
Substâncias tensoativas que reagem ao azul de metileno	< 0,010	mg/L	SMWW 5540 C 23ª Ed	0,010
Coliformes termotolerantes	13550	NMP/100mL	EPA - Vol. 82, Nº 165 - 2017	100

Fonte: PROAMB (2020)

Para esse cultivo não foi utilizado agitação ou aeração, pois houve problemas técnicos com a bomba. O inóculo utilizado foi um remanescente de biomassa da piscina após a colheita do primeiro cultivo com efluente de bovinocultura, que não pôde ser recolhido, e juntamente com a adição de 2 litros de inóculo de *Spirulina platensis*, fazendo assim um cultivo em consórcio desta com *Scenedesmus obliquus*. O pH fora ajustado inicialmente para 10, já que inicialmente se encontrava acima da faixa de 12 devido à adição de NaOH no fim do último cultivo para realizar o processo de autofloculação. Fora utilizado duas bombonas totalizando 40 litros de efluente. No final de uma semana o cultivo foi encerrado e foi realizado o procedimento de coagulação para recuperar a biomassa na piscina. Para a coagulação foi utilizado cloreto férrico em pó e polímero, sendo a concentração determinada por teste de bancada.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados do trabalho estão apresentados em seções, de acordo com o objetivo específico de cada etapa. Sendo a primeira etapa um cultivo testando condições de adaptação das microalgas, a segunda a expansão do cultivo para preparo de inóculo para os cultivos subsequentes, a terceira o cultivo maior com efluente de bovinocultura, a quarta etapa o cultivo com efluente da indústria de pescados e a quinta etapa são as conceitualizações de cenários para produção de biocombustível em larga escala, sendo o primeiro o aproveitamento de esgoto doméstico para ser utilizado para produção de bioóleo através do processo de liquefação hidrotermal, o segundo um projeto de expansão de produção de óleo e biomassa através da cultura em efluente de bovinocultura, e o terceiro um cenário de expansão de cultivo em efluente de indústria de pescado.

4.1 PRIMEIRO CULTIVO COM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA

No primeiro cultivo obteve-se a maior biomassa para o cultivo no frasco 4, no tratamento com CO₂ com um valor de 8.2 g/l de biomassa gerada. O resultado deste cultivo é mostrado na tabela 5.

Tabela 5 - Quantidade de biomassa por litro no final do experimento e os dados de turbidez inicial e final.

Tratamento	Diluição	Massa g/10 ml	Biomassa g/l	Turbidez inicial (NTU)	Turbidez final (NTU)
sem CO ₂	1 (0%)	0.0659	6.59	586	1000*
	2 (50%)	0.0357	3.57	382	1000*
	3 (25%)	0.0367	3.67	591	1800*
com CO ₂	4 (puro)	0.082	8.2	386	1516*
	5 (50%)	0.0517	5.17	398	1898*
	6 (25%)	0.0391	3.91	377	1652*

Fonte: autor

* Determinações feitas através de diluição das amostras devido ao limite de medição de turbidez de 1000 NTU no turbidímetro utilizado.

De forma geral, os valores de turbidez foram registrados maiores no final do experimento para os experimentos com CO₂ assim como a biomassa esperada também mostrou ser relativamente maior no experimento com adição de CO₂. No entanto, os valores não apresentaram diferença significativa usando o teste t ($p < 0,05$).

O valor de biomassa encontrado mostrou-se muito satisfatório de acordo com o encontrado na literatura. Em condições similares de cultivo usando o meio padrão CHU e efluente de bovinocultura misturados, após 10 dias de cultivo, OLIVEIRA (2013) obteve 0,35 g/L com 20% efluente e o restante de meio, 0,37 g/L com 25% de meio, e 0,48 g/L com 30% de meio.

Um dos fatores limitantes no cultivo com CO₂ certamente foi a falta de uma fonte contínua do mesmo. Observou-se que parte considerável do líquido havia evaporado no cultivo contendo CO₂ no final do experimento, então foi ajustado o nível de água para o mesmo do inicial para que a turbidez não fosse medida erroneamente. Essa evaporação pode ter acontecido devido ao gás injetado ter uma temperatura um pouco elevada. Um fator limitante que também pode ser mencionado é o turbidímetro utilizado não ter sido possível calibrá-lo para medir turbidez acima de 1000. Então a turbidez em alguns casos teve que ser estimada através do processo de diluição proporcional, podendo assim ter causado leituras não tão exatas.

Com o resultado do primeiro cultivo sendo bem sucedido, testou-se a adaptabilidade da microalga mesmo em alta concentração de efluente e buscou-se ampliar a escala para fins de obtenção de biomassa suficiente para testes em escala industrial, e avaliar este potencial.

A expansão foi realizada e tentou-se um cultivo que acabou sendo malsucedido com *Spirulina platensis*. Enquanto que tanto *S. obliquus* e *S. plantensis* partiram de uma turbidez de 100 NTU, em 4 dias de cultivo a turbidez da *Scenedesmus* triplicou indo para 302 NTU, enquanto o da *Spirulina* reduziu para 95,8 NTU, do dia 14/10 ao dia 18/10. Possivelmente a quantidade inóculo não foi o suficiente para a *Spirulina* e a cultura não resistiu.

Com a expansão de cultivo que fora experimentado a injeção de CO₂ puro, houve uma produção muito alta de biomassa que resultou na produção de um polissacarídeo do, que foi destinado a produção de bioplástico (ver figura 11). O polímero gerado é um polihidroxialcanoato (PHA), no caso da *S. obliquus* o mais provável é que este seria polihidroxibutirato.

Figura 11 - Bioplástico produzido por biomassa de *S. obliquus*.



Fonte: Marlene Guevara

O sucesso do primeiro cultivo abriu a possibilidade de uma expansão do volume de cultura, então o efluente que ainda estava guardado foi utilizado para aumentar a escala de cultivo, inicialmente com 2 litros e depois com 10 litros totais de cultura (inóculo, meio e efluente).

4.2 CULTIVO DE *SCENEDESMUS* EM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA EM MAIOR ESCALA

No cultivo com efluente de bovinocultura em escala de 500 litros a turbidez da piscina aparentemente não mudou significativamente com o cultivo iniciando com 103 NTU e terminando com 198 NTU após duas semanas, acredita-se que isso seja devido à diluição muito grande nesta escala.

A biomassa úmida pesada no final do cultivo foi de 325 g e a biomassa seca após a estufa resultou em 175 g. Esse valor se mostrou satisfatório quando comparado com o que é encontrado na literatura. Sendo a biomassa seca gerada de 4,3 g/L de efluente bruto adicionado inicialmente. OLIVEIRA, (2013) obteve 0,48 g/L, após dez dias de cultivo com *Scenedemus o.* com 30% de diluição em água do efluente de bovinocultura, comparativamente teríamos em torno de 1,3 g/com essa diluição, e 0,35 g/L com a diluição total do experimento.

Deste cultivo também se obteve óleo extraído da biomassa, tendo 8,79 g sido extraído (ver figura 12). A taxa de rendimento de óleo que fora extraído fica, portanto, em 5%, calculado sendo a comparação do peso da biomassa seca pelo peso do lipídeo extraído, ainda abaixo do que é encontrado na literatura de 78% (NAGARAJA et al., 2014).

Figura 12 - Óleo do primeiro cultivo extraído da biomassa de *S. obliquus*



Fonte: Marlene Guevara

Ainda assim, nesse cultivo alguns pontos podem ser ressaltados para chamar a atenção para os resultados alcançados, e possíveis melhorias que poderiam ser feitas. O período de luz solar que a piscina recebia diretamente diariamente era abaixo de 5h. A bomba centrífuga nesse cultivo promoveu uma agitação e oxigenação excelente na piscina, entretanto, possivelmente causou cisalhamento das células também devido a sua alta potência. O pH neutro pode ter favorecido microrganismos aeróbios e assim aumentado a competição para as algas.

As condições de Nitrogênio e fósforo não foram mensuradas e nem controladas, e essas têm um papel na produção de maior fração lipídica, e Segundo a literatura a limitação de fósforo e nitrogênio podem favorecer um aumento de acumulação dessa fração Assim também como um maior período de cultivo, para garantir que a cultura chegue a fase estacionária após 21 dias, geralmente (MANDAL; MALLICK, 2009).

4.3 CONSÓRCIO DE *SCENEDESMUS* E *SPIRULINA* EM EFLUENTE DE INDÚSTRIA DE PROCESSAMENTO DE PESCADO

No cultivo com efluente advindo da indústria de processamento de peixe a produção de biomassa foi muito satisfatória (ver figura 13). A turbidez fora de 128 NTU no início do cultivo para 261 NTU no dia que fora encerrado. A biomassa seca total final foi de 796,4 g coletada após uma semana de cultivo.

Fora realizado um teste em triplicata coletando amostras de 100 ml da piscina e secando em estufa, foram 300 ml coletados e divididos em três béqueres (100 ml para cada) e pesados, os resultados foram de: 0,18 g, 0,2 g e 0,19 g. Sendo a concentração de biomassa média

estimada gerada de 1,9 g/L de biomassa seca presente neste cultivo. Segundo a literatura essa é uma densidade elevada em comparação com o usual de 0,5 g/L quando cultivado em lagoa de alta taxa (EROGLU; SMITH; RASTON, 2015). Podemos argumentar que o inóculo pode ter sido ligeiramente maior, e o fato de não ter sido quantificado torna difícil a exatidão do valor que foi efetivamente gerado. Um outro fator que pode ter sido favorável para esse cultivo é a bomba centrífuga estar desativada. Possivelmente a bomba causava cisalhamento de células, provavelmente causando sua ruptura.

Um detalhe a mais que poder ter feito a diferença é que o consórcio de *Scenedesmus* e *Spirulina*, segundo a literatura, são mais resistentes à microrganismos, exibem cultivo mais robusto quando comparado com monoculturas, já que diferentes graus de resistência entre espécies podem ser uma vantagem competitiva para utilizar um consórcio de microalgas na produção de maior biomassa com finalidade de gerar biocombustíveis tendo em visto o tratamento de efluentes (considerando a enorme competição de nutrientes usualmente encontradas nesses meios geralmente ricos) (MAGRO et al., 2021).

Figura 13 - Biomassa resultante do cultivo com efluente advindo de indústria de processamento de peixe



Fonte: Marlene Guevara

Foi realizado a extração de óleo através de soxhlet de 150 g de biomassa seca e conseguiu-se obter 3,2 g de óleo desta amostra fazendo 720 ciclos em 4 horas, a extração fora de 2,13% nessas condições. Um fator que pode ter ocasionado isso é o próprio teor lipídico da biomassa poder estar relativamente baixo. O fato do experimento ter sido de curto prazo também pode ter ocasionado uma menor fração lipídica, já que em condições de depleção de nitrogênio tende a haver um maior acúmulo de lipídeos na biomassa (PODDAR et al., 2018).

4.4 CENÁRIOS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM LARGA ESCALA

4.4.1 Cenário de produção de bioóleo através de liquefação hidrotermal de esgoto doméstico

Propondo um cenário de uma cidade com cem mil habitantes iremos calcular qual seria o retorno energético caso seu esgoto doméstico fosse tratado utilizando um pré-tratamento e posteriormente direcionado para uma lagoa de alta taxa contendo bactérias e algas, com a adição de *G. sulphuraria* que cumpririam o papel de gerar uma biomassa mista de algas e bactérias que seria destinado a produção de óleo bruto através do processo de liquefação hidrotermal.

Em clima temperado, os HRAPs devem ser projetados com uma taxa de carga orgânica de cerca de 100-150 kg DBO/ha.d. As taxas de assimilação de nutrientes podem atingir 24 kg N/ha.d e 3 kg P/ha.d, com base na composição típica de nutrientes em algas e uma produtividade máxima de 30 g/m².d de biomassa de algas (peso seco) (CRAGGS et al., 2011).

Segundo ROSATO et al. (2007), a quantidade de esgoto per capita produzida por dia é entre 100-160 l/dia com uma carga de DBO em torno de 40-50 g DBO/dia. O valor de médio de nitrogênio presente em esgoto doméstico fica em torno de 40 mg/l, fósforo fica em torno de 10 mg/l (Jordão et al. 2005). A figura 14 mostra como a quantidade de biomassa de uma microalga mixotrófica modelo se assemelha em níveis de nitrogênio com os valores típicos encontrados em esgoto doméstico além de mostrar a relação de carbono e fósforo em relação a bactérias tipicamente encontradas em lodo ativado.

Estimando uma população máxima de cem mil pessoas para uma base de cálculo, teremos o seguinte volume de esgoto:

$$\frac{130 \text{ l esgoto}}{\text{dia} \cdot \text{pessoa}} \times 100\,000 \text{ pessoas} \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ l}} = 13000 \text{ m}^3$$

e a seguinte quantidade de nitrogênio gerado

$$\frac{13 \text{ Ml}}{\text{dia}} \times \frac{40 \cdot 10^{-6} \text{ kg nitrogênio}}{\text{l esgoto}} = \frac{520 \text{ kg de nitrogênio}}{\text{dia}}$$

e de fósforo

$$\frac{13 \text{ Ml}}{\text{dia}} \times \frac{10 \cdot 10^{-6} \text{ kg fósforo}}{\text{l esgoto}} = \frac{130 \text{ kg de fósforo}}{\text{dia}}$$

Com os dados de South Australian CWMS HRAP DESIGN GUIDE (2020), que comissionou um HRAP em Peterborough para trabalhar com uma área de 5000 m² para tratar 475 m³ máximo de esgoto, podemos estimar a área necessária para tratar esse efluente sendo:

$$\frac{13000 \text{ m}^3}{\text{dia} \cdot \text{pessoa}} * \frac{10,526 \text{ m}^2}{\text{m}^3 \text{ de esgoto}} = 136.838 \text{ m}^2$$

É de se estimar que essa lagoa terá vantagem se valendo de um sistema mixotrófico em relação ao sistema tradicional de tratamento de efluentes domésticos já que a relação estequiométrica entre carbono e nitrogênio (C:N) nesses efluentes é próxima da relação que também compõe a biomassa das algas mais do que bactérias heterotróficas (Fig. 12). Ainda mais importante é que a captura de CO₂ via fotossíntese corrige o desequilíbrio estequiométrico entre as razões C:N:P e assim é possível em teoria aproveitar ao máximo todo o nutriente disponível no efluente pela degradação heterotrófica e autotrófica (HENKANATTE-GEDERA et al., 2015).

B. terribilis demonstrou ter uma taxa de crescimento muito alta (224.81 mg/L.d) tanto em condições autotróficas quanto heterotróficas e tem uma taxa de remoção de amônia e fosfato de 2,85 mg/L.d e 0,4 mg/L.d, respectivamente (CABANELAS et al., 2013). O que pode garantir um tratamento de águas residuais muito mais eficiente que as técnicas convencionais e sem custos adicionais. Essas técnicas apenas retiram 40% da fração total de nitrogênio e 12% de fósforo (CABANELAS et al., 2013).

Sabendo que a taxa de crescimento esperada em condições similares, podemos calcular a geração de biomassa por dia como sendo

$$\frac{224.81 \text{ mg biomassa}}{\text{l. dia}} \cdot \frac{13 \text{ M l esgoto}}{\text{dia}} = \frac{2922.53 \text{ kg de biomassa}}{\text{dia}}$$

podemos também estimar a quantidade de nitrogênio amoniacal removido

$$\frac{2,85 \text{ mg de amônia}}{\text{l. dia}} \cdot \frac{13 \text{ M l esgoto}}{\text{dia}} = \frac{37.05 \text{ kg de amônia}}{\text{dia}}$$

Sabendo que o efluente doméstico terá em torno de 520 kg de nitrogênio por dia, podemos estimar a quantidade de tempo de residência necessária para remover nitrogênio até um nível aceitável de tratamento como sendo em torno de 10 dias.

LEOW et al. (2015) calibraram uma equação de determinação de porcentagem de produção de bio-óleo através de biomassa através de múltipla regressão com dados derivados

de 10 bateladas de *Nannochloropsis* com composições variadas submetidas a HTL com temperatura de 300°C por 30 minutos (o mesmo proposto neste trabalho). Sendo dw peso seco, L fração lipídica, P fração proteica e C fração de carboidratos da biomassa.

$$\text{Geração de bioóleo (\% dw)} = 0,97 (\pm 0,10).L + 0,42 (\pm 0,07).P + 0,17 (\pm 0,35).C$$

Equação 1

Com o perfil de Carboidratos, Lipídios e Proteína de *B. terribilis* podemos estimar quanto de sua biomassa geraria óleo com as ressalvas de que, primeiro, as frações de C, P e L variam conforme o substrato e as condições de crescimento das algas como mostrado por CABANELAS et al. (2013). Segundo a equação foi elaborada e responde melhor para valores de lipídios dentro da faixa de 35-45 % em peso seco, portanto o cálculo aqui realizado é apenas– uma estimativa pela escassez de bibliografia destes dados para esse microrganismo, segundo o conhecimento do autor.

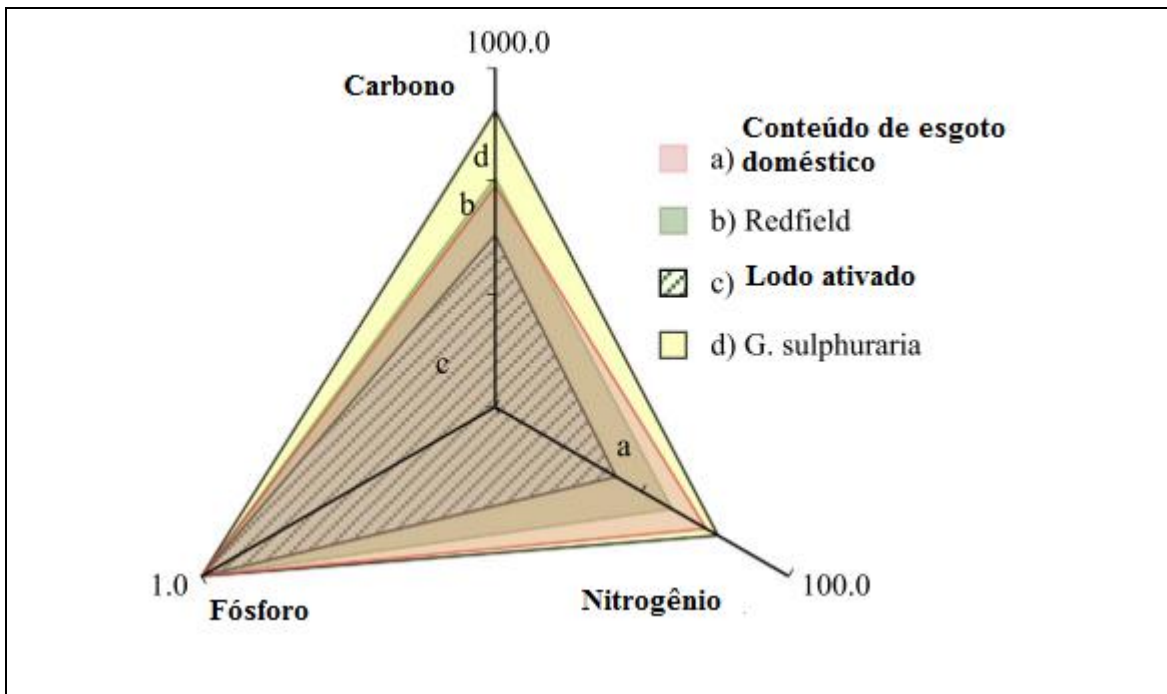
Submetendo os dados de *B. terribilis* na equação 1 obtemos

$$0,97 (\pm 0,10) \times 25 + 0,42 (\pm 0,07) \times 67 + 0,17 (\pm 0,35) \times 7,8 = 53,7\% \text{ geração de bioóleo}$$

Logo conseguimos estimar com isso a quantidade gerada de bioóleo através da liquefação hidrotermal da biomassa de *B. terribilis*.

$$\frac{2922.53 \text{ kg de biomassa}}{\text{dia}} \times 53,7\% = \frac{1569.4 \text{ kg de bioóleo}}{\text{dia}}$$

Figura 14 - Relação C:N:P em esgotos urbanos (a) comparada com a composição de várias biomassas cultivadas com tratamento de esgoto urbano: biomassa de algas de acordo com a fórmula Redfield (b); lodo ativado (c); e *G. sulphuraria* (d)



Fonte: adaptada de: (HENKANATTE-GEDERA et al., 2015)

A liquefação hidrotermal mostrou gerar um óleo bruto com valores de 25,8 a 30,3 MJ/Kg para o óleo bruto produzido de uma cultura mista de microalgas para diferentes temperaturas de processo (260 - 320 °C) e tempos de retenção (0 - 1,5 h) (ARPASI, 2016; CHEN et al., 2014). E de 33,3 MJ/kg para a temperatura de 320°C. O óleo apresentou teores de 59,1 a 71,4 % de carbono, 7,58 a 8,98 % de hidrogênio, 2,5 - 4,92 % de nitrogênio e 15,4 - 30,3 % de oxigênio. Análises de cromatografia gasosa comprovaram a presença de vários tipos de compostos, desde ácidos graxos de cadeia longa até compostos nitrogenados cíclicos como amidas e pirrolidinas, alcanos e hidrocarbonetos cíclicos (ARPASI, 2016). Mais recentemente em um processo de liquefação hidrotermal de esgoto em uma escala piloto foi-se obtido um bioóleo com HHV 39 MJ/kg e 28 rendimento % peso utilizando cultura de *Galdieria sulphuraria*, uma alga mixotrófica de características similar com a que estamos avaliando neste trabalho (CHENG et al., 2019a). Um valor que é comparável com o óleo derivado de petróleo (45 MJ/kg) (ZHOU et al., 2013).

ISLAM et al. (2013) quantificaram o poder calorífico superior do biodiesel de *B. terribilis* sendo 37,3 MJ kg⁻¹. Neste trabalho iremos considerar esse valor como sendo uma referência para o bioóleo produzido a partir do processo de HTL da liquefação hidrotermal da biomassa de *B. terribilis*.

Conforme COUTO et al. (2018) o balanço de energia do HTL foi determinado de acordo com dois métodos o método de recuperação de energia (ER), que pode ser definido como a energia inicialmente presente na biomassa e convertida em bio-óleo, obtida da Equação 2

$$ER \text{ bio} - \text{óleo} (\%) = \frac{HHV_{\text{bio}} - \text{óleo} \times m_{\text{bio}} - \text{óleo}}{HHV_{\text{bio}} - \text{massa} \times m_{\text{biomassa}}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Conforme já mencionado previamente a escassez de dados de literatura de *B. terribilis*, a similaridade do conteúdo de macronutrientes de *B. terribilis* e *G. sulphuraria* e o fato de ambos serem microrganismos mixotróficos, utilizamos aqui uma média dos valores de poder calorífico da biomassa seca providenciado por CHENG et al. (2019b) de duas variantes de *G. sulphuraria* cultivadas em efluente doméstico. O valor médio estimado é de 25.7 MJ kg⁻¹. A recuperação de energia estimada pela equação 2 foi de 77,94%. Portanto, o processo de HTL da biomassa dessa microalga crescida em esgoto doméstico, nesse cenário teria um aproveitamento positivo e geraria mais energia do que consumira para a produção de bioóleo. Este processo demonstra-se ser mais viável e produzir mais conforme a concentração de lipídeos e carga orgânica aumenta, devido ao maior potencial energético do lodo adicionado para liquefação.

4.4.2 Cenário de produção de biomassa com efluente de bovinocultura

Com os dados experimentais obtidos de produção de biomassa de *S. obliquus* a partir de efluente de bovinocultura, podemos extrapolar os dados e estimar o quanto seria a produção diária com a vazão de efluente total gerado pela fazenda Trevisan.

Sabendo que fora produzido 175 g de biomassa em 14 dias utilizando 40 litros de efluente bruto sendo tratado físico-quimicamente e diluído em água. Temos que:

$$\frac{175 \text{ g}}{14 \text{ dias}} \cdot \frac{1}{40 \text{ l (litros de efluente bruto)}} = \frac{0.3125 \text{ g de biomassa}}{\text{l} \cdot \text{dia}}$$

Sabendo que a fazenda gera em média 70 mil litros de efluente por dia temos estimadamente:

$$\frac{0.3125 \text{ g}}{\text{l} \cdot \text{dia}} \cdot \frac{70.000 \text{ l}}{1} \cdot \frac{1 \text{ kg}}{1000 \text{ g}} = \frac{21,9 \text{ kg de biomassa}}{\text{dia}}$$

Tendo então um número médio de 21,9 kg de biomassa sendo produzido diariamente. O valor poderia certamente ser muito maior caso as condições de cultivo fossem otimizadas para obter o que a literatura aponta

Para tal seria preciso realizar previamente um processo de separação físico-químico e seria necessário ter área o suficiente para as lagoas de alta taxa. Tendo em vista a diluição de 20 % e sabendo que dos 70.000 litros de efluente bruto em torno de 75% de fluído seria recuperado através do processo físico-químico obtemos estimadamente 275 mil litros e para tal

a área estimada segundo os dados extraídos de South Australian CWMS HRAP DESIGN GUIDE (2020):

$$\frac{275 \text{ mil litros}}{1} * \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ l}} * \frac{10,526 \text{ m}^2}{\text{m}^3 \text{ de efluente}} = 2894 \text{ m}^2$$

Logo a área estimada seria de 2894 m², ou um pouco menos que um terço de hectare, para as lagoas de alta taxa necessárias para tratar o efluente de bovinocultura com microalgas.

Com os dados de produção de óleo e a taxa de rendimento obtida podemos calcular a produção e extração que ocorreria nesse cenário de produção:

$$\frac{8,79 \text{ g}}{175 \text{ g}} * \frac{21,9 \text{ kg}}{\text{dia}} = \frac{1,1 \text{ kg de bioóleo}}{\text{dia}}$$

Portanto teríamos 1,1 kg de óleo em média sendo produzido por dia nessas mesmas condições do experimento.

Com uma extração maior, e maior produtividade de lipídeos gerando em maior rendimento obtido, podemos calcular a extração teórica com o rendimento dado pela literatura de 78% que ocorreria nesse cenário de produção:

$$\frac{78}{100} * \frac{21,9 \text{ kg}}{\text{dia}} = \frac{17 \text{ kg de bioóleo}}{\text{dia}}$$

Logo a produção poderia ser em média de 17 kg por dia de óleo com condições otimizadas.

Utilizando a literatura podemos observar que uma extração de lipídeos de 24-78% em peso da biomassa é factível, portanto, a extração de óleo poderia ser consideravelmente maior do primeiro cultivo. levando em consideração isto, e usando o referencial experimental para estes cálculos, podemos alegar que poderia ser extraído mais óleo (BONI; AIDA; LEILA, 2018). No entanto, há também espaço para desenvolvimento e pesquisa para conseguir gerar e capturar maior biomassa do efluente em questão.

4.4.3 Cénario com efluente de indústria de pescados

Similar ao calculado para o efluente de bovinocultura, para os dados obtidos do efluente da indústria de processamento de pescado temos:

$$\frac{796,4 \text{ g}}{7 \text{ dias}} * \frac{1}{40 \text{ l (litros de efluente bruto)}} = \frac{2,84 \text{ g}}{\text{l} \cdot \text{dia}}$$

Sabendo que a empresa de pescados gera no máximo 28,7 mil litros de efluente por dia temos estimadamente:

$$\frac{2,84 \text{ g}}{\text{l} \cdot \text{dia}} \cdot \frac{28.700 \text{ l}}{1} \cdot \frac{1 \text{ kg}}{1000\text{g}} = \frac{81,5 \text{ kg}}{\text{dia}}$$

Para tratar esse efluente considerando a diluição usada no trabalho de 1/15 com lagoas de alta taxa precisaríamos de uma área estimada de:

$$\frac{430 \text{ mil litros}}{1} * \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ l}} * \frac{10,526 \text{ m}^2}{\text{m}^3 \text{ de efluente}} = 4531 \text{ m}^2$$

Então uma área de 4531 m² ou quase meio hectare seria necessária nessas condições de diluição e vazão para as lagoas de alta taxa de tratamento.

Com os dados de produção de óleo e a taxa de rendimento obtida podemos calcular a produção e extração que ocorreria nesse cenário de produção:

$$\frac{3,2 \text{ g}}{150 \text{ g}} \cdot \frac{81,5 \text{ kg}}{\text{dia}} = \frac{1,74 \text{ kg de bioóleo}}{\text{dia}}$$

Portanto teríamos 1,74 kg de óleo em média sendo produzido por dia nessas mesmas condições que foram realizadas no experimento.

Calculando o rendimento teórico que a literatura sugere de 78% teríamos nesse cenário de produção:

$$\frac{78}{100} \cdot \frac{81,5 \text{ kg}}{\text{dia}} = \frac{63,6 \text{ kg de bioóleo}}{\text{dia}}$$

Logo a produção poderia ser em média de 63,6 kg por dia de óleo com condições otimizadas.

5. CONCLUSÕES

Este trabalho avaliou o potencial de geração de biomassa valendo-se do cultivo de microalgas em diferentes efluentes. Um sistema HRAP foi testado. Além dos cultivos com diferentes efluentes, foi realizada a extração do conteúdo lipídico da microalga *S. obliquus* cultivada em resíduo de bovinocultura bruto. E também fora extraído o conteúdo lipídico de uma cultura em consórcio de *S. obliquus* e *S. platensis* em efluente de indústria de processamento de peixe.

Fora também realizado duas estimativas de ampliamiento de escala valendo-se de efluentes industriais que se mostram promissores para futuros trabalhos e estudos de aprimoração nessa área. Um cenário de crescimento de microalgas em efluente de origem doméstica evidencia a possibilidade de gerenciar de forma abrangente, sustentável e econômica recursos que muitas vezes são completamente ignorados e que possuem potencial energético e econômico a ser explorado.

Conseguimos conduzir com sucesso o cultivo de microalgas em efluente advindo de bovinocultura, e um cultivo em consórcio mostrou-se bem-sucedido em efluente de indústria de processamento de peixes.

Portanto, como conclusão deste trabalho podemos apontar:

A biomassa seca gerada no cultivo de efluente de bovinocultura na piscina, simulando uma lagoa alta taxa, foi obtida a concentração de 0,35 g/L com uma diluição de 8% do efluente bruto.

A biomassa seca gerada no cultivo de efluente da indústria de processamento de peixes na piscina foi obtida a concentração de 1,9 g/L com uma diluição de 6% do efluente.

O óleo extraído do cultivo em efluente de bovinocultura teve um rendimento de óleo de 5%.

O óleo extraído do cultivo de efluente da indústria de processamento de peixes teve um rendimento de 2,13%.

Os resultados da extração não foram suficientemente bons, e os de cultivo certamente poderiam ser otimizados para gerar mais biomassa, no entanto, por ser uma linha de pesquisa nova e o grupo não ter tido experiência, demonstra portanto que muito pode ser aprendido e futuramente otimizado para alcançar níveis satisfatórios.

Os cenários sugeridos com produção de microalgas em efluente doméstico e o procedimento de liquefação hidrotermal da biomassa para a produção de bióleo, ampliação de cultivo e biorefinaria de biodiesel em efluente de bovinocultura e da indústria de processamento de peixes mostram claramente que há um potencial energético e econômico grande que ainda não é explorado nesses efluentes, e que certamente trariam grandes benefícios ambientais e econômicos com a sua adoção.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Traz-se as seguintes sugestões para continuação deste trabalho:

- Garantir que o cultivo tenha maior insolação para otimizar e encurtar ao máximo o tempo de cultivo.
- Não utilizar bomba para o cultivo e sim um rotor de pás que garantirá menor gasto energético para cultivar as algas. Com preferência por fontes de energia alternativa para alimentar esse rotor, para garantir que o produto final, o combustível gerado, seja o mais econômico possível. Algumas sugestões seriam um roto alimentado por moinho de vento ou energia solar.
- Investigar outros efluentes como fonte de nutriente para o cultivo.
- Testar o cultivo em efluente advindo de bovinocultura com a alteração de usar um pH elevado desde o início. E da mesma forma, testar o efluente advindo de processamento de peixes com um pH neutro.
- Avaliar a eficiência de biorremediação que as microalgas garantem. Nitrogênio, fósforo, DBO, DQO, entre outros.
- Avaliar o teor de produção de metabólitos secundários de interesse presente na biomassa das microalgas, como luteína, astaxantina, carboidratos.
- Investigar o uso de fontes de CO₂ para produzir mais biomassa e cuidar do problema ambiental gerado por tal emissão. De preferência buscar fontes industriais pré-existentes para serem capturadas pelas microalgas.
- Estudar formas de diminuir o custo de cultivo para que o produto gerado seja ainda mais eficiente economicamente.
- Investigar formas de colheita que sejam mais economicamente eficientes.
- Investigar outras finalidades com a biomassa gerada, como o processo de liquefação hidrotermal.
- Investigar formas de automatizar boa parte do processo, principalmente a colheita.

REFERÊNCIAS

A.B.M, Sharif Hossain; AISHAH, Salleh. Biodiesel Fuel Production from Algae as Renewable Energy A . B . M . Sharif Hossain , Aishah Salleh , Amru Nasrulhaq Boyce , Partha chowdhury and Mohd Naquiuddin Biotechnology Laboratory , Institute of Biological Sciences , Faculty of Science , University o. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 250–254, 2008.

AIERZHATI, Aersi; STABLEIN, Michael J.; WU, Niki E.; KUO, Chih Ting; SI, Buchun; KANG, Xu; ZHANG, Yuanhui. Experimental and model enhancement of food waste hydrothermal liquefaction with combined effects of biochemical composition and reaction conditions. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 284, n. March, p. 139–147, 2019. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.03.076. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.076> Acesso em: 20 nov. 2021.

ANTUNES, Raquel; SILVA, Inês. Utilização de algas para a produção de biocombustíveis. **INPI - Instituto Nacional da propriedade industrial**, [S. l.], p. 1–35, 2010.

ARPASI, Diana Elizabeth Quispe. Aplicação de processos oxidativos e digestão anaeróbia na estabilização de efluente da liquefação hidrotermal de Spirulina. [S. l.], p. 75, 2016.

BENEMANN, John R. Final report: Biofixation of CO₂ and greenhouse gas - Abatement with microalgae - Technology roadmap. [S. l.], v. 7010000926, p. 30, 2003.

BIDDY, Mary; DAVIS, Ryan; JONES, Susanne; ZHU, Yunhua. Whole Algae Hydrothermal Liquefaction Technology Pathway. **Technical Report Efficiency & Renewable Energy, operated by the Alliance for Sustainable Energy, LLC.**

NREL/TP-5100-58051 PNNL-22314, [S. l.], n. March, p. 1–10, 2013. Disponível em: www.nrel.gov.

BONI, J.; AIDA, S.; LEILA, K. Lipid Extraction Method from Microalgae *Botryococcus Braunii* As Raw Material to Make Biodiesel with Soxhlet Extraction. **Journal of Physics: Conference Series**, [S. l.], v. 1095, n. 1, 2018. DOI: 10.1088/1742-6596/1095/1/012004 Acesso em: 20 nov. 2021.

BWAPWA, Joseph K.; AKASH, Anandraj; TROIS, Cristina. **Jet Fuel from Domestic Wastewater Treatment Using Microalgae: A Review**. [s.l: s.n.]. DOI: 10.1007/978-3-030-17724-9_14 Acesso em: 20 nov. 2021.

CABANELAS, Iago Teles Dominguez; ARBIB, Zouhayr; CHINALIA, Fábio A.; SOUZA, Carolina Oliveira; PERALES, José A.; ALMEIDA, Paulo Fernando; DRUZIAN, Janice Izabel; NASCIMENTO, Iracema Andrade. From waste to energy: Microalgae production in wastewater and glycerol. **Applied Energy**, [S. l.], v. 109, p. 283–290, 2013. DOI: 10.1016/j.apenergy.2013.04.023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.04.023> Acesso em: 20 nov. 2021.

CHEN, Wan Ting; ZHANG, Yuanhui; ZHANG, Jixiang; YU, Guo; SCHIDEMAN, Lance C.; ZHANG, Peng; MINARICK, Mitchell. Hydrothermal liquefaction of mixed-culture algal biomass from wastewater treatment system into bio-crude oil. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 152, p. 130–139, 2014. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.10.111. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.111> Acesso em: 20 nov. 2021.

CHENG, Feng; CUI, Zheng; CHEN, Lin; JARVIS, Jacqueline; PAZ, Neil; SCHAUB, Tanner; NIRMALAKHANDAN, Nagamany; BREWER, Catherine E. Hydrothermal liquefaction of high- and low-lipid algae: Bio-crude oil chemistry. **Applied Energy**, [S. l.], v. 206, n. May, p. 278–292, 2017. DOI: 10.1016/j.apenergy.2017.08.105 Acesso em: 20 nov. 2021

CHENG, Feng; JARVIS, Jacqueline M.; YU, Jiuling; JENA, Umakanta;

NIRMALAKHANDAN, Nagamany; SCHAUB, Tanner M.; BREWER, Catherine E. Bio-crude oil from hydrothermal liquefaction of wastewater microalgae in a pilot-scale continuous flow reactor. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 294, p. 122184, 2019. a. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122184. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122184> Acesso em: 20 nov. 2021.

CHENG, Feng; MALLICK, Kwonit; HENKANATTE GEDARA, Shanka M.; JARVIS, Jacqueline M.; SCHAUB, Tanner; JENA, Umakanta; NIRMALAKHANDAN, Nagamany; BREWER, Catherine E. Hydrothermal liquefaction of *Galdieria sulphuraria* grown on municipal wastewater. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 292, n. June, p. 121884, 2019. b. DOI: 10.1016/j.biortech.2019.121884. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121884> Acesso em: 20 nov. 2021.

CHISTI, Yusuf; YAN, Jinyue. Energy from algae: Current status and future trends. Algal biofuels - A status report. **Applied Energy**, [S. l.], v. 88, n. 10, p. 3277–3279, 2011. DOI: 10.1016/j.apenergy.2011.04.038. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.04.038> Acesso em: 20 nov. 2021.

COUTO, Eduardo Aguiar; PINTO, Filomena; VARELA, Francisco; REIS, Alberto; COSTA, Paula; CALIJURI, Maria Lúcia. Hydrothermal liquefaction of biomass produced from domestic sewage treatment in high-rate ponds. **Renewable Energy**, [S. l.], v. 118, p. 644–653, 2018. DOI: 10.1016/j.renene.2017.11.041. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.11.041> Acesso em: 20 nov. 2021.

CRAGGS, R. J.; HEUBECK, S.; LUNDQUIST, T. J.; BENEMANN, J. R. Algal biofuels from wastewater treatment high rate algal ponds. **Water Science and Technology**, [S. l.], v. 63, n. 4, p. 660–665, 2011. DOI: 10.2166/wst.2011.100 Acesso em: 20 nov. 2021.

CUÉLLAR-GARCÍA, D. J.; RANGEL-BASTO, Y. A.; URBINA-SUAREZ, N. A.;

BARAJAS-SOLANO, A. F.; MUÑOZ-PEÑALOZA, Y. A. Lipids production from *Scenedesmus obliquus* through carbon/nitrogen ratio optimization. **Journal of Physics: Conference Series**, [S. l.], v. 1388, n. 1, 2019. DOI: 10.1088/1742-6596/1388/1/012043 Acesso em: 20 nov. 2021.

CURTIS KM; NK, Tepper; TC, Jatlaoui; E, Berry-Bibee; LG, Horton; LB, Zapata; SIMMONS KB. **Enhanced Reader.pdfNature**, 1997.

DIANURSANTI; GOZAN, Misri; NOVIASARI, Citra. The effect of glycerol addition as plasticizer in *Spirulina platensis* based bioplastic. **E3S Web of Conferences**, [S. l.], v. 67, p. 11–14, 2018. DOI: 10.1051/e3sconf/20186703048 Acesso em: 20 nov. 2021.

ECM, S. A.; CRITERIA, Design. High Rate Algal Pond (HRAP) Design Guideline - an element in CWMS Wastewater Treatment Trains. [S. l.], n. January, p. 0–24, 2020.

EROGLU, Ela; SMITH, Steven M.; RASTON, Colin L. Biomass and Biofuels from Microalgae. [S. l.], v. 2, p. 95–115, 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-16640-7. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-16640-7> Acesso em: 20 nov. 2021.

FRANCO, André Luiz Custódio; LÔBO, Ivon Pinheiro; DA CRUZ, Rosenira Serpa; TEIXEIRA, Cláudia Maria Luz Lapa; DE ALMEIDA NETO, José Adolfo; MENEZES, Rafael Silva. Biodiesel De Microalgas: Avanços E Desafios. **Quimica Nova**, [S. l.], v. 36, n. 3, p. 437–448, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000300015 Acesso em: 20 nov. 2021.

GARCÍA-MARTÍNEZ, Janet B.; URBINA-SUAREZ, Nestor A.; ZUORRO, Antonio; BARAJAS-SOLANO, Andres F.; KAFAROV, Viatcheslav. Fisheries wastewater as a sustainable media for the production of algae-based products. **Chemical**

Engineering Transactions, [S. l.], v. 76, n. October, p. 1339–1344, 2019. DOI: 10.3303/CET1976224 Acesso em: 20 nov. 2021.

GATAMANENI LOGANATHAN, Bhalamurugan; ORSAT, Valerie; LEFSRUD, Mark; WU, Bo Sen. A comprehensive study on the effect of light quality imparted by light-emitting diodes (LEDs) on the physiological and biochemical properties of the microalgal consortia of *Chlorella variabilis* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in dairy wastewater. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [S. l.], v. 43, n. 8, p. 1445–1455, 2020. DOI: 10.1007/s00449-020-02338-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02338-0> Acesso em: 20 nov. 2021.

GENDY, Tahani S.; EL-TEMAMY, Seham A. Commercialization potential aspects of microalgae for biofuel production: An overview. **Egyptian Journal of Petroleum**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 43–51, 2013. DOI: 10.1016/j.ejpe.2012.07.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpe.2012.07.001> Acesso em: 20 nov. 2021.

HENKANATTE-GEDERA, S. M.; SELVARATNAM, T.; CASKAN, N.; NIRMALAKHANDAN, N.; VAN VOORHIES, W.; LAMMERS, Peter J. Algal-based, single-step treatment of urban wastewaters. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 189, p. 273–278, 2015. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.03.120. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.120> Acesso em: 20 nov. 2021.

HWANG, Jae Hoon; CHURCH, Jared; LEE, Seung Jin; PARK, Jungsu; LEE, Woo Hyung. Use of Microalgae for Advanced Wastewater Treatment and Sustainable Bioenergy Generation. **Environmental Engineering Science**, [S. l.], v. 33, n. 11, p. 882–897, 2016. DOI: 10.1089/ees.2016.0132 Acesso em: 20 nov. 2021.

ISLAM, Muhammad Aminul; MAGNUSSON, Marie; BROWN, Richard J.; AYOKO, Godwin A.; NABI, Md Nurun; HEIMANN, Kirsten. Microalgal species selection for biodiesel production based on fuel properties derived from fatty acid profiles.

Energies, [S. l.], v. 6, n. 11, p. 5676–5702, 2013. DOI: 10.3390/en6115676 Acesso em: 20 nov. 2021.

J., Melinda; G., Reay; RICHARDSON, Christine; L. HARRISO, Susan T. Advantages and Challenges of Microalgae as a Source of Oil for Biodiesel. **Biodiesel - Feedstocks and Processing Technologies**, [S. l.], 2011. DOI: 10.5772/30085 Acesso em: 20 nov. 2021.

JARRAUD, M.; STEINER, A. **Summary for policymakers**. [s.l: s.n.]. v. 9781107025 DOI: 10.1017/CBO9781139177245.003 Acesso em: 20 nov. 2021.

JONES, Susanne; ZHU, Yunhua; ANDERSON, D.; HALLEN, Richard T.; ELLIOTT, Douglas C. Process Design and Economics for the Conversion of Algal Biomass to Hydrocarbons: Whole Algae Hydrothermal Liquefaction and Upgrading. **Pnnl**, [S. l.], n. March, p. 1–69, 2014. Disponível em: http://www.pnnl.gov/main/publications/external/technical_reports/PNNL-23227.pdf.

KAZEMI SHARIAT PANAH, Hamed; TABATABAEI, Meisam; AGHBASHLO, Mortaza; DEHHAGHI, Mona; REHAN, Mohammad; NIZAMI, Abdul Sattar. Recent updates on the production and upgrading of bio-crude oil from microalgae. **Bioresource Technology Reports**, [S. l.], v. 7, n. April, p. 100216, 2019. DOI: 10.1016/j.biteb.2019.100216. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100216> Acesso em: 20 nov. 2021.

KOVACEVIC, Vujadin; WESSELER, Justus. Cost-effectiveness analysis of algae energy production in the EU. **Energy Policy**, [S. l.], v. 38, n. 10, p. 5749–5757, 2010. DOI: 10.1016/j.enpol.2010.05.025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enpol.2010.05.025> Acesso em: 20 nov. 2021.

LAVOIE, Alain; DE LA NOÛE, J. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* in wastewaters: Auto- or bioflocculation? **Biotechnology and Bioengineering**, [S.

l.], v. 30, n. 7, p. 852–859, 1987. DOI: 10.1002/bit.260300707
Acesso em: 20 nov. 2021.

LEOW, Shijie; WITTER, John R.; VARDON, Derek R.; SHARMA, Brajendra K.; GUEST, Jeremy S.; STRATHMANN, Timothy J. Prediction of microalgae hydrothermal liquefaction products from feedstock biochemical composition. **Green Chemistry**, [*S. l.*], v. 17, n. 6, p. 3584–3599, 2015. DOI: 10.1039/c5gc00574d Acesso em: 20 nov. 2021.

LV, Junping; GUO, Junyan; FENG, Jia; LIU, Qi; XIE, Shulian. A comparative study on flocculating ability and growth potential of two microalgae in simulated secondary effluent. **Bioresource Technology**, [*S. l.*], v. 205, p. 111–117, 2016. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.01.047. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.047> Acesso em: 20 nov. 2021.

MAGRO, Francisco G.; FREITAG, João F.; BERGOLI, André; COSTA, Jorge Alberto Vieira; COLLA, Luciane M. Microalgae Consortia for Post-treating Effluent of Anaerobic Digestion of Cattle Waste and Evaluation of Biochemical Composition of Biomass. **Bioenergy Research**, [*S. l.*], 2021. DOI: 10.1007/s12155-021-10270-8 Acesso em: 20 nov. 2021.

MANDAL, Shovon; MALLICK, Nirupama. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [*S. l.*], v. 84, n. 2, p. 281–291, 2009. DOI: 10.1007/s00253-009-1935-6 Acesso em: 20 nov. 2021.

MOLINUEVO-SALCES, Beatriz; RIAÑO, Berta; HERNÁNDEZ, David; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. Cruz. Microalgae and wastewater treatment: Advantages and disadvantages. **Microalgae Biotechnology for Development of Biofuel and Wastewater Treatment**, [*S. l.*], p. 505–533, 2019. DOI: 10.1007/978-981-13-2264-8_20 Acesso em: 20 nov. 2021.

MURPHY, Fionnuala; DEVLIN, Ger; DEVERELL, Rory; MCDONNELL, Kevin. Biofuel production in Ireland—an approach to 2020 targets with a focus on algal biomass. **Energies**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 6391–6412, 2013. DOI: 10.3390/en6126391 Acesso em: 20 nov. 2021.

NAGARAJA, Y. P.; BIRADAR, Chandrashekhar; MANASA, K. S.; VENKATESH, H. S. Production of biofuel by using micro algae (*Botryococcus braunii*). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 851–860, 2014.

NASCIMENTO, Iracema Andrade; MARQUES, Sheyla Santa Izabel; CABANELAS, Iago Teles Dominguez; PEREIRA, Solange Andrade; DRUZIAN, Janice Isabel; DE SOUZA, Carolina Oliveira; VICH, Daniele Vital; DE CARVALHO, Gilson Correia; NASCIMENTO, Maurício Andrade. Screening Microalgae Strains for Biodiesel Production: Lipid Productivity and Estimation of Fuel Quality Based on Fatty Acids Profiles as Selective Criteria. **Bioenergy Research**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1–13, 2013. DOI: 10.1007/s12155-012-9222-2 Acesso em: 20 nov. 2021.

OLIVEIRA, Amanda Cristina De. Produção de biomassa de microalgas *Scenedesmus* sp. EM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA BIODIGERIDO. **Universidade Federal do Paraná**, [S. l.], 2013.

OSWALD, William J.; GOLUEKE, Claence G. Biological Transformation of Solar Energy. **Advances in Applied Microbiology**, [S. l.], v. 2, n. C, p. 223–262, 1960. DOI: 10.1016/S0065-2164(08)70127-8 Acesso em: 20 nov. 2021.

PACHAURI, M.; MEYER, Leo. **Klimaänderung Synthesebericht**. [s.l.: s.n.].

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. **Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production** **Bioresource Technology**, 2011. DOI:

10.1016/j.biortech.2010.06.158 Acesso em: 20 nov. 2021.

PODDAR, M. K.; ANAND, M.; FAROOQUI, S. A.; MARTIN, G. J. O.; MAURYA, M. R.; SINHA, A. K. Hydroprocessing of lipids extracted from marine microalgae *Nannochloropsis* sp. over sulfided CoMoP/Al₂O₃ catalyst. **Biomass and Bioenergy**, [S. l.], v. 119, n. August, p. 31–36, 2018. DOI: 10.1016/j.biombioe.2018.08.011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.08.011> Acesso em: 20 nov. 2021.

RITTMANN, Bruce E. Opportunities for Renewable Bioenergy Using Microorganisms. [S. l.], 2008. DOI: 10.1002/bit.21875. Disponível em: www.interscience.wiley.com Acesso em: 20 nov. 2021.

ROSATO, Marina Munhoz; LEITE, Maurício Augusto; DURIGAN, Mariana Regina; A, Renato; FRANCO, Momesso; BRAZ, Fernando; HERNANDEZ, Tangerino. Quantificação Dos Efluentes Domésticos Produzidos Em Uma Área Rural (Cinturão Verde , Ilha Solteira-Sp). Quantification of Domestic Sewage Produced on a Rural Area (Cinturão Verde , Ilha Solteira-Sp). **Area**, [S. l.], n. 2005, p. 9845–9851, 2007.

RUANGSOMBOON, Suneerat. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. **Bioresource Technology**, [S. l.], v. 109, p. 261–265, 2012. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.07.025. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.025> Acesso em: 20 nov. 2021.

SAHOO, Dinabandhu; ELANGBAM, Geetanjali; DEVI, Salam Sonia. Using algae for carbon dioxide capture and bio-fuel production to combat climate change. **Phykos**, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 32–38, 2012.

SALAMA, El Sayed; KURADE, Mayur B.; ABOU-SHANAB, Reda A. I.; EL-DALATONY, Marwa M.; YANG, Il Seung; MIN, Booki; JEON, Byong Hun. Recent progress in microalgal biomass production coupled with wastewater treatment for biofuel generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 79, n. May, p. 1189–1211, 2017. DOI: 10.1016/j.rser.2017.05.091. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.091> Acesso em: 20 nov. 2021.

SHEN, Yafei. Carbon dioxide bio-fixation and wastewater treatment via algae photochemical synthesis for biofuels production. **RSC Advances**, [S. l.], v. 4, n. 91, p. 49672–49722, 2014. DOI: 10.1039/c4ra06441k Acesso em: 20 nov. 2021.

SI, Buchun et al. Anaerobic conversion of the hydrothermal liquefaction aqueous phase: Fate of organics and intensification with granule activated carbon/ozone pretreatment. **Green Chemistry**, [S. l.], v. 21, n. 6, p. 1305–1318, 2019. DOI: 10.1039/c8gc02907e Acesso em: 20 nov. 2021.

U.S. GLOBAL CHANGE RESEARCH PROGRAM. Climate science special report: Fourth national climate assessment, volume I. **U.S. Global Change Research Program**, [S. l.], v. 1, p. 470, 2018. DOI: 10.7930/J0J964J6. Disponível em: https://science2017.globalchange.gov/downloads/CSSR2017_FullReport.pdf%0Ascience2017.globalchange.gov. Acesso em: 3 dez. 2021.

XIN, Li; HONG-YING, Hu; JIA, Yang. Lipid accumulation and nutrient removal properties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent. **New Biotechnology**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 59–63, 2010. DOI: 10.1016/j.nbt.2009.11.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2009.11.006> Acesso em: 20 nov. 2021.

ZELLER, Mark Ashton; HUNT, Ryan; JONES, Alexander; SHARMA, Suraj. Bioplastics and their thermoplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* microalgae.

Journal of Applied Polymer Science, [S. l.], v. 130, n. 5, p. 3263–3275, 2013. DOI: 10.1002/app.39559 Acesso em: 20 nov. 2021.

ZHOU, Yan; SCHIDEMAN, Lance; YU, Guo; ZHANG, Yuanhui. A synergistic combination of algal wastewater treatment and hydrothermal biofuel production maximized by nutrient and carbon recycling. **Energy and Environmental Science**, [S. l.], v. 6, n. 12, p. 3765–3779, 2013. DOI: 10.1039/c3ee24241b Acesso em: 20 nov. 2021.